



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STUDIUM PŘÍRODNÍCH LÁTEK ZÁZVORU

STUDY OF NATURAL SUBSTANCES OF GINGER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Vojtěch Dobiáš

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1296/2017
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Vojtěch Dobiáš**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název bakalářské práce:

Studium přírodních látek zázvoru

Zadání bakalářské práce:

1. Charakterizujte a popište rostlinný druh zázvoru.
2. Prostudujte přírodní látky v něm obsažené.
3. Připravte extrakty ze zázvoru a stanovte obsah vybraných látek pomocí UV–VIS spektrometrie.
4. Ověřte antimikrobiální aktivitu difuzní jamkovou metodou.
5. Experimentální data vyhodnoťte.

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Vojtěch Dobiáš
student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Práce je zaměřena na stanovení přírodních látek obsažených v zázvoru. Extrakty bio zázvorového čaje a oddenku zázvoru byly připraveny do tří různých rozpouštědel. Spektrofotometrickými metodami byla stanovena antioxidační aktivita a obsah celkových polyfenolů a flavonoidů. Byl také zkoumán antimikrobiální účinek extraktů difuzní jamkovou metodou proti bakteriím *Bacillus cereus* a *Serratia marcescens*.

Z experimentálních dat lze usoudit, že analyzované vzorky se v obsahu sledovaných látek značně liší. Nejvyšší koncentrace polyfenolických látek byly naměřeny u zázvorového čaje, kde koncentrace dosahovala až $0,481 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, zatímco u oddenku zázvoru jen $0,078 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Čaj také vykazoval významně vyšší antioxidační aktivitu. Vliv na růst mikroorganismů projevy pouze vodné extrakty čaje, které velice slabě inhibovaly růst bakterie *Bacillus cereus*.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the quantity of natural substances in ginger. Extracts from organic ginger tea and ginger rhizome were prepared using three different solvents. Antioxidant activity and the content of polyphenols and flavonoids were determined spectrophotometrically. Effects on bacterial growth of the extracts were studied against bacteria *Bacillus cereus* and *Serratia marcescens* by agar well diffusion assay.

The obtained data showed, that there is a significant amount of difference between the contents of studied compounds in the two extract samples. The highest amount of polyphenols was found in ginger tea with concentration of $0,481 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, compared to $0,078 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ found in the ginger rhizome. The tea showed a greater antioxidant activity than the rhizome. Bacterial growth was slightly inhibited only by water extracts of the tea and this was only observed against *Bacillus cereus*.

KLÍČOVÁ SLOVA

zázvor, *Zingiber officinale*, polyfenoly, antioxidační aktivita, gingerol, přírodní látky

KEYWORDS

ginger, *Zingiber officinale*, polyphenols, antioxidant activity, gingerol, plant compounds

DOBIÁŠ, V. *Studium přírodních látek zázvoru*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 42 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D..

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Rád bych poděkoval své vedoucí bakalářské práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za trpělivost, vstřícnost a odborné vedení v průběhu řešení této bakalářské práce.

OBSAH

1 Úvod.....	7
2 Teoretická část.....	8
2.1 Koření.....	8
2.2 Zázvor.....	9
2.2.1 Botanická charakterizace.....	10
2.2.2 Pěstování a zpracování.....	11
2.2.2.1 Klima.....	11
2.2.2.2 Půda.....	11
2.2.2.3 Pěstování.....	11
2.2.2.4 Zpracování.....	12
2.2.3 Využití zázvoru.....	12
2.2.4 Chemické složení zázvoru.....	13
2.2.4.1 Esenciální oleje.....	13
2.2.4.2 Oleoresiny.....	13
2.3 Přírodní látky.....	14
2.3.1 Terpeny.....	14
2.3.2 Antioxidanty.....	14
2.3.3 Polyfenoly.....	14
2.3.4 Flavonoidy.....	16
2.3.5 Metody extrakce přírodních látek.....	17
2.3.5.1 Macerace.....	17
2.3.5.2 Hydrodestilace.....	17
2.3.5.3 Soxhletova extrakce.....	17
2.3.6 Metody stanovení antioxidační aktivity.....	18
2.3.6.1 Metoda TEAC.....	18
2.3.6.2 Metoda ORAC.....	18
2.3.6.3 Chemiluminiscence.....	18
2.3.6.4 Metoda DPPH.....	18
2.3.6.5 Metoda FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	19
2.3.7 Metody stanovení celkových polyfenolů a flavonoidů.....	19
2.3.7.1 Stanovení polyfenolů Folin-Ciocalteuovým činidlem.....	19
2.3.7.2 Kolorimetrická metoda s chloridem hlinitým.....	19
2.3.8 Metody stanovení antimikrobiální aktivity.....	19
2.3.8.1 Difuzní jamková metoda.....	19
3 Experimentální část.....	20
3.1 Seznam použitého vybavení a softwaru.....	20
3.2 Použité chemikálie.....	20
3.3 Vzorky.....	21
3.4 Příprava extraktů čaje a oddenku zázvoru.....	21
3.4.1 Příprava extraktů čaje.....	22
3.4.2 Příprava extraktů oddenku zázvoru.....	22
3.5 Stanovení obsahu celkových polyfenolů.....	22
3.5.1 Příprava roztoků.....	22
3.5.2 Vlastní stanovení obsahu celkových polyfenolů.....	22
3.5.3 Příprava kalibrační křivky.....	23

3.6 Stanovení obsahu celkových flavonoidů	24
3.6.1 Příprava roztoků	24
3.6.2 Vlastní stanovení obsahu celkových flavonoidů	24
3.6.3 Příprava kalibrační křivky	25
3.7 Stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS•⁺	26
3.8 Ověření antimikrobiální aktivity	26
3.8.1 Charakteristika použitých mikroorganismů.....	27
3.8.1.1 Serratia marcescens	27
3.8.1.2 Bacillus cereus	27
3.8.2 Příprava kultur mikroorganismů a kultivačního média	28
3.8.3 Vlastní ověření antimikrobiální aktivity	28
4 Výsledky a diskuze	29
4.1 Obsah celkových polyfenolů.....	29
4.2 Obsah celkových flavonoidů	31
4.3 Antioxidační aktivita.....	33
4.4 Antimikrobiální aktivita	35
5 Závěr	37
Literatura	38
Seznam použitých zkratk a symbolů	42

1 ÚVOD

S rostoucím zájmem společnosti o zdraví člověka a prevenci chorob začínají lidé vyhledávat způsoby, jak zvýšit příjem tělu prospěšných látek. Jako jednou z nejpřirozenějších cest se jeví příjem takových sloučenin z potravin. Mezi nejstarší zdroje tzv. fytoláték, sekundárních metabolitů rostlin vykazující vliv na fyziologii savců, patří koření a byliny [1]. Ty se již před několika tisíci lety používaly jako léčiva nebo konzervanty [2].

Velice rozšířeným kořením je zázvor, které se získává z oddenku rostliny zázvoru lékařského (*Zingiber officinale* Roscoe) [3]. Díky svým rozsáhlým léčivým účinkům byl ve starověké Indii uznáván spíše jako lék než jako koření. Hojně byl využíván v tradiční indické, čínské i japonské medicíně. Charakteristická ostrá chuť zázvoru je způsobena sloučeninami gingeroly a shogaoly, které jsou považovány za původce farmakologických účinků zázvoru [4]. Již řada studií se věnovala problematice využití zázvoru jako léčiva, kdy byla potvrzena efektivita složek zázvoru i proti rakovině. Jelikož řada chorob souvisí s oxidativními procesy v těle, je výzkum antioxidačních účinků zázvoru správnou cestou v boji proti nemocem [5; 6].

Tato bakalářská práce je zaměřena na studium významných přírodních látek v zázvoru a jejich stanovení instrumentálními technikami v extraktech. Spolu s antioxidační aktivitou byl studován antimikrobiální účinek obsahových látek difuzní jamkovou metodou.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Koření

Koření lze definovat jako produkt, který primárně obohacuje nebo upravuje senzorickou kvalitu potravin. Tím je především myšlena úprava chuti, barvy a především vůně. Pojem koření zahrnuje výrobky vzniklé vysušením částí vonných rostlin, tak i byliny ve formě vysušených listů vonných rostlin. K úpravě výše uvedených senzorických charakteristik se také používají aromatické části různých druhů zeleniny [3]. Koření se získává z rostlin zařazených do pestré škály čeledí, což podtrhuje značnou rozmanitost této komodity. Významné čeledě jsou miříkovité (kopr, kmín, fenykl), hluchavkovité (bazalka, tymián, máta), česnekovité (cibule, pažitka, česnek), myrtovité (hřebíček), zázvorovité (zázvor, kurkuma, kardamon), vavřínovité (skořice, bobkový list) [7]. Části rostlin využitelných pro výrobu koření přibližuje Tabulka 1.

První zmínky o použití koření se datují do doby starověkého Egypta. Při procesu balzamování bylo využíváno koření jako je kmín, skořice, anýz nebo majoránka. Některé dnes dobře známé druhy koření byly používány v Indii už po tisíciletí. V Ajurvédské medicíně se pro podporu trávení a tvorbu slin po jídle žvýkal hřebíček nebo kardamon zabalený do betelového listu [8]. V Evropě v 15. století byly uskutečňovány mořeplavby do orientálních zemí za účelem získání cenného koření [9].

Tabulka 1: *Využitelnost různých částí rostlin* [3]

Část rostlin	Koření
Míšek	Muškatový květ
Kůra	Skořice
Bobule	Nové koření, pepř
Pupeny	Hřebíček
Cibule	Česnek, cibule, pórek
Pestík	Šafrán
Jádro	Muškatový oříšek
Listy	Bazalka, máta, majoránka, bobkový list
Oddenek	Zázvor, kurkuma
Pryskyřice	Asafoetida
Kořen	Křen
Semena	Anýz, fenykl, koriandr, hořčice, kmín

Běžně se koření rozděluje do čtyř kategorií dle chuti na: pálivé koření, jemné koření, aromatické koření, byliny a aromatická zelenina [3; 10]. Tuto klasifikaci s příklady koření shrnuje Tabulka 2.

Tabulka 2: Rozdělení koření dle chuti [3; 10]

Kategorie	Koření
Pálivé koření	Pepř, paprika, zázvor, hořčice
Jemné koření	Paprika, koriandr
Aromatické koření	Kardamon, skořice, kmín, fenykl, muškátový oříšek, hřebíček
Byliny	Bazalka, tymián, majoránka, estragon
Aromatická zelenina	Česnek, cibule, celer

Hlavními atributy koření ovlivňující celkovou organoleptickou charakteristiku je chuť a vůně. Aroma je u většiny koření způsobeno přítomností esenciálních olejů ale i dalších sloučenin, jejichž chemická struktura je různorodá. Lze zde zařadit estery, alkoholy, aldehydy i sirné sloučeniny. Těkavé látky stimulují čichový epitel lokalizovaný v nosních dutinách. Za barvu a pronikavou chuť koření jsou zodpovědné látky netěkavé a rozpustné ve vodě [7; 9].

Význam koření netkví pouze ve schopnosti upravovat senzorické vlastnosti. Různé části rostlin byly po dlouhou dobu využívány pro medicínské účely a jejich pozitivní účinek na zdraví byl v posledních desetiletích podrobně zkoumán [11]. Klíčovými vlastnostmi koření jsou: antioxidační, antimikrobiální a konzervační účinky [12].

Dnes lze syntetizovat řadu chemických látek, které by mohly substituovat koření, avšak spotřebitelé se v dnešní době zaměřují spíše na produkty z přírodních zdrojů. Mimo jiné byly některé uměle vyrobené látky podrobeny analýze a shledány toxickými a karcinogenními [9].

2.2 Zázvor

Do rodu zázvor (*Zingiber*) se zařazuje asi 100 druhů víceletých bylin, jejichž původem jsou stinné nížinné pralesy v oblasti tropické Asie. Zejména v tropech se některé druhy pěstují jako okrasné rostliny. Ostatní druhy jsou využívány jako koření [13].

Zingiber zerumbet má nahořklou chuť a uplatňuje se jako koření i jako léčivo, *Zingiber montanum* vyniká vůní oddenku blízké směsi zázvoru, kafru a kurkumy. *Zingiber spectabile* je využíván v Malajsii. *Zingiber mioga* roste v Japonsku, Číně i na Havaji [14]. Z druhu *Zingiber aromaticum* byla izolována bioaktivní látka s protirakovinnými účinky [15]. Mladé oddenky druhu *Zingiber americanus* se konzumují na Jávě a v USA je pěstován jako okrasná rostlina. Příčinou oblíbenosti druhu *Zingiber argenteum* je jeho atraktivní vzhled [4].

Koření známé jako zázvor se získává z oddenku rostliny zázvoru lékařského (*Zingiber officinale*) [3]. Tato trvalá bylina, zařazující se do čeledi zázvorovitých, pochází z tropické Asie. Pěstuje se především v Indii, v Číně, Japonsku, Indonésii a Nigérii [14].



Obrázek 1: Zázvor lékařský [16]

Do Evropy se zázvor dostal s arabskými obchodníky a byl proto po dlouhou dobu považován za arabskou plodinu [13]. Velice populárním byl zázvor v antickém Řecku a Římu, odkud se postupně rozšířil do ostatních částí Evropy. Podle legendy byl první zázvorový chléb upečen pekařem z ostrova Rhodos [9]. V Anglii ve 14. století byl pepř a zázvor nejběžnější koření. V 16. století byl dokonce zázvor dovážen do Evropy až z Karibiku [13].

Jako lék má zázvor dlouhou tradici. Používal se ke snižování nadýmání a poskytuje úlevu při nachlazení. Působí proti nevolnosti při pohybu a také proti mořské nemoci, čehož využívali Čínští námořníci dlouho před tím, než byly skutečné účinky potvrzeny lékařskou vědou. Spolu s dalšími bylinami se zázvor uplatňoval jako konzervační prostředek potravin. Experimentálně byl potvrzen účinek zázvoru proti kažení vepřového masa [13]. V lidovém léčitelství se zázvor využíval při léčbě na anémie, nefritidy a tuberkulózy [17].

2.2.1 Botanická charakterizace

Nejvýznamnějším druhem rodu zázvor je zázvor lékařský (*Zingiber officinale* Roscoe) [18]. Je to vytrvalá bylina dorůstající do výšky 0,5–1 m. Rákosovité stonky jsou štíhlé a zeleně zbarvené listy až 30 cm dlouhé a 1,5–2 cm široké. Vzácně se tvoří plody s trojúhelníkovou nebo oválnou tobolkou s tmavými semeny. Z tlustých, plazivých, dužnatých a zaškrcovaných oddenků vyrůstají tenké kořeny [9; 13; 19].

Komerčně nejdůležitější částí zázvoru lékařského a také nejvyužívanější je oddenek rostoucí v půdě [9]. Oddenek slouží k vegetativnímu rozmnožování rostliny a také k uchování živin. Je to modifikace stonku [4].

2.2.2 Pěstování a zpracování

Zázvor je pěstován v různých částech světa. Klimatické a geografické podmínky regionů, ve kterých se zázvor pěstuje, mají vliv na vlastnosti vypěstovaného zázvoru. Mezi tyto vlastnosti patří velikost, tvar, obsah vlákniny, šťavnatost a především chuť [9]. Dominantními producenty zázvoru na trhu je Čína a Indie. Dalšími významnými produkčními oblastmi zázvoru jsou země jako je Nigérie, Sierra Leone, Indonésie, Bangladéš, Austrálie, Fidži, Jamajka a Nepál [3].

V mírných oblastech lze zázvor pěstovat v květináči. Požadavkem je však úrodná půda tvořená kompostem, zeminou a rašelinou. Během fáze aktivního růstu v květináči je nutné zázvor dostatečně zalévat. Umístění by mělo být v částečném stínu [13].

2.2.2.1 Klima

Zázvor nesnese velmi nízké teploty a upřednostňuje teplé a vlhké podnebí. Proto se pěstuje v oblastech s tropickým nebo subtropickým typem klimatu. Optimální nadmořská výška pro pěstování je 300–900 m, ale lze jej pěstovat v oblastech až do 1500 m n. m. Hraniční teplota, pod kterou zázvor neroste je 13 °C. Teplotní optimum pro růst zázvoru se pohybuje v rozmezí od 19–28 °C. Extrémně vysoké teploty mohou vést až ke spálení rostliny. Pro plodinu jsou ideální rovnoměrné srážky od 1500–3000 mm v časovém rozmezí 5–7 měsíců. Nedostatek srážek se kompenzuje zavlažováním. Zázvor je citlivý na mráz, a proto se např. v horských oblastech severní a severovýchodní Indie sklízí ještě před příchodem mrazu [4].

2.2.2.2 Půda

Kvalita půdy má značný dopad na průběh růstu, zralost zázvoru, obsah chemických látek a prvkového složení [4; 20]. Jedním ze sledovaných kvalitativních znaků půd je objemová hmotnost. Ta ovlivňuje obsah škrobu, esenciálních olejů, proteinů a aminokyselin. Na obsah vlákniny a cukrů má minimální vliv. Optimální pH půdy pro zázvor je 5–7. Nejvhodnější jsou dobře odvodněné půdy s hloubkou 30 cm a se sypkou a drobivou texturou. K pěstování v mělkých půdách lze využít vyvýšených záhonů nebo metody mulčování. V Číně, Japonsku a na Tchaj-Wanu je běžné využívání aluviálních půd, vysušených rýžových polí nebo vysušených močálů ke kultivaci zázvoru. Nevhodné je pěstování v půdách trpících podmáčením. Z důvodu možného vzniku půdní eroze při silném dešti nejsou pro pěstování vhodné ani prudké svahy. Ideální kvalitativní znaky půdy pro nejvyšší výtěžek oddenku zázvoru jsou: písčitá hlína s kyselostí pH 5,7, vysoký obsah organických látek a draslíku [4].

2.2.2.3 Pěstování

Získávání oddenku zázvoru je důvodem proč se rostlina pěstuje jako jednoletá [9]. Pole pro pěstování se připravují podle klimatických podmínek, kvality půdy, velikosti pole a způsobu zavlažování, a proto se v různých regionech zpracování půdy liší. Bez orby a nakypření půdy by plodina nevyprodukovala požadovaný tvar oddenku, který je důležitý pro další zpracování [4]. Rozmnožování zázvoru je realizováno dělením dužnatých oddenků (semenné části) [13]. Velikost a hmotnost oddenků pro sadbu se liší od místa pěstování. Obecně lze říci, že čím větší oddenek pro sadbu, tím lepší růst a výtěžek. Semenné části se před samotnou sadbou ošetřují pro vyvolání klíčení, ochranou před patogeny, škůdci, hnilobou a nemocemi [4].

Při výsadbě se zohledňují faktory jako rozestup semenných částí, hloubka, roční období a datum zasazení. V různých zemích se čas sadby liší. Hloubka zasazení závisí na velikosti semenné části, typu půdy a obsahu vody. Při určování velikosti rozestupů se bere v potaz typ půdy i klima. Správně zvoleným rozmístěním a časem výsadby lze značně předejít výskytu plevelu [4].

Podle způsobu dalšího zpracování se doba sklizně zázvoru liší. Zázvor, který se bude využívat k výrobě zavařenin, cukrovinek, nealkoholických i alkoholických nápojů se sklízí 4–5 měsíců po zasazení. Pro výrobu sušeného zázvoru a zázvorového oleje se sklízí po 8–10 měsících. Sklizení se provádí ručně nebo pomocí běžných zemědělských nástrojů [4; 13].

2.2.2.4 Zpracování

Po sklizni se oddenek oddělí od kořenů a nadzemních částí a očistí se vodou. Tím se odstraní ulpělá hlína, zbytky pesticidů a dalších nečistot. Pro produkci zázvoru ve větším měřítku se používá vysokotlaký proud vody. Loupání slupky zázvoru se provádí ručně, chemicky i mechanicky. K ručnímu odstranění slupky se používá dřevěný nůž. Nejběžnější a nejstarší metodou chemického loupání je pomocí hydroxidu sodného. Mechanické loupání není pro zázvor příliš vhodné. Po odstranění slupky se oddenky zázvoru suší na přímém slunci po dobu 7 až 10 dnů. Z důvodu možné kontaminace z okolí by se měl zázvor sušit na čistém povrchu. Riziko při sušení představují také plísňe. V průběhu sušení se v prvních dnech oddenky obracejí, aby došlo k rovnoměrnému vysušení. Cílem sušení je dosažení vlhkosti 10 %. Nesprávné skladování sušeného zázvoru může vést až k mikrobiální kontaminaci [4].

Oddenky zázvoru se zpracovávají na různé produkty, které se používají jako koření. Těmito produkty jsou: čerstvý zázvor, konzervovaný zázvor, sušený zázvor, zázvorový prášek, oleje a oleoresiny ze sušeného zázvoru. Čerstvý zázvor se vyznačuje mimořádnou kořenící schopností [3]. Zázvorový prášek je vyráběn mletím sušeného zázvoru. Konzervace zázvoru se běžně provádí pomocí cukerných roztoků nebo nálevů. Dalšími produkty jsou krystalizovaný a kandovaný zázvor, zázvorový pyré a zázvorová pasta [4]. Zázvorový olej se získává destilací čerstvého zázvoru a oleoresiny extrakcí organickými rozpouštědly [3].

2.2.3 Využití zázvoru

Hlavním využitím zázvoru je jeho použití jako koření. V přípravě orientálních jídel má nezastupitelné místo. Používá se také k výrobě sladkých jídel, k výrobě nealkoholických i alkoholických nápojů, sirupů, čajů a také k výrobě zázvorové kávy. Významnými produkty ze zázvoru jsou zázvorový olej a oleoresiny. Výhodou těchto produktů je možnost standardizovat úroveň intenzity aroma a chuti, což u čerstvého koření není tak snadné. Oblast použití těchto produktů je široká. Nalézají uplatnění jako suroviny do kořeních přípravků na maso, drůbeže, plodů moře a zeleniny, dále jako ochucovadla pečiva, cukrovinek, likérů a pálivých omáček. Připravují se z nich sirupy proti kašli, krémy na zmírnění bolesti kloubů a také přípravky pro ústní hygienu [4].

Mimo využití jako koření, se zázvor uplatňuje jako léčivo. V tradiční čínské medicíně je čerstvý zázvor určen na potlačení pocitu na zvracení, zmírnění kašle. Sušený zázvor je naopak používán na bolesti hlavy, zvracení a průjem. Indický systém medicíny Ajurvěda používá zázvor jako léčivo už od starověku [4].

2.2.4 Chemické složení zázvoru

Relativní zastoupení složek zázvoru závisí na druhu kultivaru, půdě použité k vypěstování a na klimatických podmínkách, ve kterých bylo zázvor pěstován. Hlavními složkami jsou esenciální oleje, škrob i jiné sacharidy, bílkoviny, vláknina, vosky, barviva, stopové prvky, vitamíny, aminokyseliny a sloučeniny s typickou ostrou chutí. Škrob tvoří 40–60 % z celkové hmotnosti vysušeného zázvoru. Obsah proteinů se pohybuje od 6,2 do 19,8 %, obsah lipidů od 5,7 do 14,5 % a obsah vlákniny 1,1–7,0 % [4].

Aminokyseliny přítomné v zázvoru jsou kyselina asparagová, threonin, serin, glycin, cystein, valin, izoleucin a arginin. Reakcemi mezi α -aminokyselinami a redukujícími cukry mohou vznikat látky negativně ovlivňující chuť [4].

Složky obsažené v oddenku zázvoru lze rozdělit do dvou hlavních frakcí: esenciální oleje složené z těkavých sloučenin a frakci obsahující netěkavé látky, kam se zařazují oleoresiny spolu s dalšími organickými a anorganickými sloučeninami [4].

2.2.4.1 Esenciální oleje

Aroma zázvoru je způsobeno především esenciálními oleji (někdy též silice, éterické oleje). Jejich obsah v zázvoru se pohybuje od 1 % do 3 % [5]. Esenciální oleje lze charakterizovat jako vonné olejovité kapaliny získávající se z částí rostlin. Jsou obsaženy v květech, semenech, listech, kůře, plodech a v dalších rostlinných orgánech [21]. Rostlinné esenciální oleje jsou složitou směsí složenou z polárních i nepolárních sloučenin, z nichž jsou hlavní terpenoidy a jejich kyslíkaté deriváty. Silice mohou obsahovat navíc alifatické uhlovodíky, kyseliny, kyslíkaté deriváty uhlovodíků, estery, laktony a sloučeniny dusíku a síry [22].

Esenciální oleje našly využití v potravinářství, kde se využívají jako ochucovadla, v kosmetickém průmyslu (výroba parfémů apod.) a díky širokému spektru účinků, z nichž hlavním je antibakteriální účinek, i farmaceutickém průmyslu [21].

Jelikož je koncentrace esenciálních olejů v rostlinách nízká, je třeba využít co nejúčinnějších extrakčních metod. Nejběžnější je parní destilace [22].

Esenciální oleje zázvoru se většinou získávají již zmíněnou parní destilací, extrakcí superkritickým oxidem uhličitým nebo extrakcí rozpouštědly [4].

Chemické složení esenciálních olejů není jednotné a významně závisí na regionu pěstování rostliny. Již bylo identifikováno více než 50 složek oleje zázvoru. Charakteristickou skupinou esenciálních olejů zázvoru jsou terpeny [4; 5]

2.2.4.2 Oleoresiny

Při odseparování těkavých složek zázvoru destilací se získají esenciální oleje. Ty však neobsahují netěkavé sloučeniny s pronikavou chutí, které jsou pro zázvor typické. Oleoresiny obsahují jak netěkavou frakci, tak i část esenciálních olejů a další sloučeniny jako jsou uhlovodíky a mastné kyseliny [4].

Vhodnou metodou pro získání oleoresinů je extrakce organickými rozpouštědly jako je aceton, ethanol, dichlormethan. Výtěžky extrakcí se pohybují od 3–11 % [4].

2.3 Přírodní látky

2.3.1 Terpeny

Největší podíl na složení esenciálních olejů mají terpeny [22]. Pod tuto skupinu spadá vysoký počet přírodních látek. Nejjednoduššími jsou desetiuhlíkaté monoterpeny, které vznikají kondenzací dvou izoprenových jednotek. Existují v acyklické i cyklické formě a také tvoří různé kyslíkaté deriváty. Mimo uhlovodíkový řetězec tedy mohou obsahovat např. alkohol (menthol, borneol), aldehyd (geranial, citronellal), keton (thujon), ester (bornylacetát), ether (1,8-cineol), fenol (thymol). Seskviterpeny jsou sloučeniny s patnácti uhlíky v řetězci. Zařazuje se zde uhlovodík β -bisabolen, alkoholy (farnesol, carotol), ketony (nootkaton) a aldehydy (anisaldehyd). Poněkud složitějšími látkami jsou dvacetihlíkaté diterpeny, které tvoří i tetracyklické struktury [23].

Hlavním komponentem esenciálních olejů zázvoru je seskviterpen α -zingiberen, dále β -seskvifelandren, β -bisabolen, farnesen a mnoho dalších. Některé monoterpeny obsažené v zázvoru jsou α -pinen, myrcen, limonen, cineol a borneol.

2.3.2 Antioxidanty

Antioxidanty lze definovat jako látky, které mají schopnost zpomalit nebo zastavit oxidaci. Významnými přírodními antioxidanty jsou polyfenolické látky, jejichž zdrojem je čerstvé ovoce, zelenina, koření a byliny [24; 25].

Pro přežití potřebuje většina organismů kyslík pro aerobní respiraci, kdy se kyslík chová jako akceptor elektronů. Problémem je však tvorba částečně redukovaných kyslíkových forem, které se označují jako volné radikály (ROS). Ty mohou oxidovat sacharidy, DNA, lipidy a bílkoviny, což se projeví ve změně struktury těchto biomolekul, a dojde k ovlivnění jejich funkce. Lidské tělo má své mechanismy, které mu pomáhají bránit se proti volným radikálům, ale tato ochrana je nedostačující. Jelikož si člověk neumí syntetizovat dva důležité antioxidanty: vitamin C a vitamin E, musí je spolu s dalšími antioxidanty přijímat v potravě [24].

Poškozující oxidační změny způsobené ROS vyvolávají tzv. oxidační stres. K němu dochází při zahlcení lokálních antioxidačních systémů volnými radikály. To má za následek poškození až smrt buněk. Oxidační stres je svým mechanismem působení dáván do souvislosti s onemocněním cév, rakoviny, šedého zákalu, demence a mozkové mrtvice a je také asociován s projevy stárnutí [24].

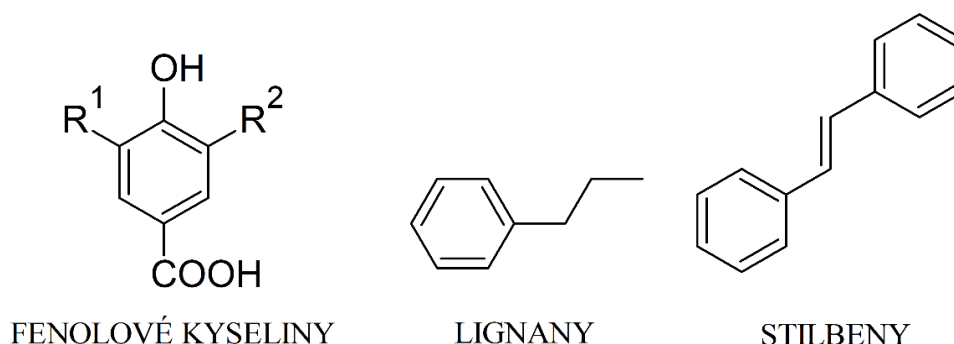
2.3.3 Polyfenoly

Polyfenoly jsou rozsáhlou skupinou chemických látek zahrnující více než 8000 unikátních chemických struktur. Jsou obsaženy ve všech rostlinných orgánech, a proto jsou neodlučitelnou složkou lidské potravy. V poslední době se tato skupina sekundárních metabolitů rostlin dostala do pozornosti vědců a potravinářského průmyslu z důvodů, které především souvisejí s pozitivními účinky na zdraví. V minulosti byly polyfenoly dokonce považovány za antinutrienty, jelikož některé polyfenolické látky jsou schopny vázat a srážet bílkoviny a tím snižovat stravitelnost potravy [25; 26; 27; 28].

Tyto látky jsou produkovány vyššími rostlinami a hrají významnou roli při jejich ochraně před patogeny, UV zářením, reaktivními formami kyslíku a dusíku, parazity a rostlinnými predátory [25; 29].

Polyfenoly jsou takové sloučeniny, které obsahují jednu nebo více hydroxylových funkčních skupin vázaných na benzenovém jádře. Mohou to být jednoduché sloučeniny jako jsou fenolové kyseliny nebo mohou mít komplexní strukturu jako sloučeniny zvané taniny, což jsou oligomery a polymery flavonoidů [28].

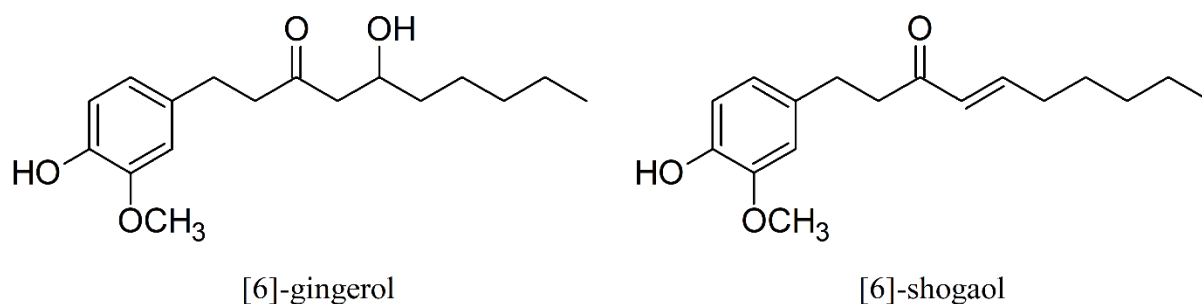
Polyfenolické sloučeniny lze rozdělit do čtyř základních skupin: flavonoidy, fenolové kyseliny (kyselina gallová, kyselina ferulová), stilbeny (resveratrol) a lignany (pinoresinol, matairesinol) [26]. Jejich struktura je zobrazena na Obrázek 2.



Obrázek 2: Základní struktura polyfenolických sloučenin

V současnosti je využití polyfenolů směřováno do oblastí jako je medicína a farmacie, kde se polyfenoly mohou uplatnit jako látky s antioxidačními, protialergickými, protizánětlivými, protirakovinotvornými, antihypertenziivními a antimikrobiálními účinky. Do budoucna mohou polyfenoly hrát významnou roli v léčbě nemocí jako je tuberkulóza. Kvůli rychlé mutaci bakterie *Mycobacterium tuberculosis* klesá účinnost dostupných léčiv, a právě polyfenolické látky by mohly být při léčbě takových nemocí využity [27].

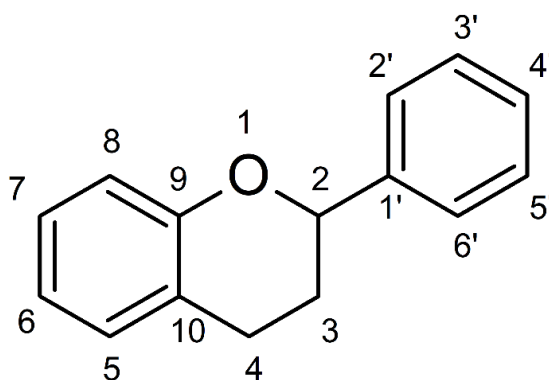
Charakteristická chuť zázvoru je dána zejména přítomností polyfenolických sloučenin zvaných gingeroly. Ty především ovlivňují chuť čerstvého zázvoru. U sušeného zázvoru převažují shogaoly, které se z gingerolů přeměňují dehydratací při tepelném zpracování. Převládajícím homologem je [6]-gingerol, který disponuje silnými antioxidačními i protizánětlivými účinky [5]. Výzkumy potvrdily efektivitu [6]-gingerolu vůči rakovině žaludku, slinivky břišní a dalších nádorových onemocnění trávicího traktu [6].



Obrázek 3: *Struktura [6]-gingerolu a [6]-shogaolu*

2.3.4 Flavonoidy

Nejrozšířenější skupinou rostlinných polyfenolů jsou flavonoidy. Ve vysokých množstvích jsou přítomny v pokožce listů a slupkách ovoce. Základní strukturou flavonoidů jsou dvě benzenová jádra propojena tříuhlíkatým řetězcem.



Obrázek 4: *Struktura flavonoidů*

Na tento uhlíkatý skelet se mohou vázat různé substituenty. Do poloh 4', 5 a 7 se obvykle vážou hydroxyly. Většina flavonoidů existuje ve formě glykosidů. Rozdělují se na flavonoly, flavony, flavanony, isoflavony, anthokyanidiny a flavanoly [1; 26]. Tuto klasifikaci popisuje Tabulka 3.

Tabulka 3: *Rozdělení flavonoidů* [1]

Typ flavonoidu	Název sloučeniny
Flavonoly	Kaempferol, kvercetin, myricetin
Flavanoly	Katechin, epikatechin
Flavony	Luteolin, apigenin
Anthokyanidiny	Kyanidin, delphinidin
Flavanony	Naringenin, hesperidin
Isoflavony	Genistein, daidzein

Pravděpodobně nejrozšířenějšími flavonoidy jsou flavonoly, kam se zařazuje kaempferol, quercetin a myricetin. Flavonoly jsou také velice rozšířené. Jednoduchými flavonoly jsou katechin a jeho isomer epikatechin. Složitější strukturu mají polymerní proanthokyanidiny známé jako kondenzované taniny, které mohou být složeny až z 50 monomerních jednotek. Výbornými zdroji flavonolů je např. červené víno, zelený čaj, čokoláda. Flavonolům jsou podobné flavony, které nejsou tak rozšířené a jejich zdroji jsou rostliny jako celer a petržel. Za modrou, červenou barvu květin a ovoce jsou zodpovědné ve vodě rozpustné rostlinné pigmenty zvané anthokyanidiny. Chrání rostliny před nadměrným slunečním zářením a také se uplatňují při vábení hmyzích opylovačů. Flavanony nemají dvojnou vazbu mezi C2 a C3 uhlíkem a jsou typické přítomností chirálního centra na uhlíku C2. Jsou velice reaktivní a podléhají reakcím jako je hydroxylace a glykosylace. Vysoké koncentrace flavononů jsou v citrusových plodech. Isoflavony vykazují estrogení aktivitu, a proto se jim také říká fytoestrogeny [1; 29]. Nejhojnějšími flavonoidy v zázvoru jsou kvercetin, naringenin, rutin, kaempferol a katechin [30].

2.3.5 Metody extrakce přírodních látek

Pro analýzu přírodních látek je klíčová metoda extrakce, která může významně ovlivnit výsledky měření. V posledních 50 letech bylo cílem vytvořit metody, které by splňovaly parametry jako je ekologičnost, rychlost, kvalita a vysoký výtěžek. Mezi některé nekonvenční metody patří ultrazvuková extrakce nebo extrakce pulzním elektrickým polem. Klasickými extrakčními metodami jsou macerace, Soxhletova extrakce a hydrodestilace [31].

2.3.5.1 Macerace

Levná metoda, používána pro extrakci esenciálních olejů a bioaktivních látek z rostlin, zahrnuje několik kroků. Nejprve je rostlinný materiál rozdrcen na malé částice, aby se rozpouštědlo dobře promíchalo s materiálem. V dalším kroku je přidáno rozpouštědlo a směs se míchá. Kapalina se odstraní a z pevného podílu se tlakem získá koncentrovaný roztok. Získané kapaliny se smíchají a nežádoucí nečistoty se odstraní filtrací [31].

2.3.5.2 Hydrodestilace

Metoda je vhodná pro izolaci esenciálních olejů z rostlin. Voda s rostlinným materiálem je vpravena do destilační aparatury a směs je uvedena k varu. Uvolňované páry jsou v chladiči ochlazovány. Frakce zachyceného kondenzátu se poté odseparují [31].

Jedním z typů hydrodestilace je parní destilace. Při ní je pára vytvářena mimo destilační aparaturu a poté je vháněna přes dno nádoby přepážkou, kde dochází ke kontaktu s rostlinným materiálem [4; 31].

2.3.5.3 Soxhletova extrakce

Původně byla tato metoda určena pro extrakci lipidů, ale dnes se už využívá i na extrakci přírodních látek. Vzorek je vložen do extrakční patrony, která je umístěna do Soxhletova extrakčního nástavce. Nástavec je připevněn na destilační baňku s extrakčním rozpouštědlem. Páry rozpouštědla jsou ochlazovány v chladiči, které kondenzují do patrony se vzorkem. Po naplnění patrony po určitou hladinu dojde k vyprázdnění a roztok s extrahovanými látkami

vyteče zpět do destilační baňky. Směs je dále zahřívána, proces se opakuje, a tak dochází k zakoncentrování roztoku [31].

2.3.6 Metody stanovení antioxidační aktivity

Metody stanovení antioxidační aktivity jsou založeny na dvou principech. Prvním je zhášení radikálů antioxidanty, u kterého se přímo měří přesun elektronu nebo vodíkového atomu z antioxidantů k volným radikálům. Druhým je schopnost antioxidantů redukovat kovy [32].

2.3.6.1 Metoda TEAC

Metoda TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) využívá schopnost antioxidantů zhaset stabilní kationradikál $ABTS^{\bullet+}$ modrozelené barvy s maximem absorpce při vlnové délce 734 nm. V původní metodě TEAC se kationradikál $ABTS^{\bullet+}$ generoval v reakci s ferrylmyoglobinovým radikálem, který se získal reakcí mezi metmyoglobinem a peroxidem vodíku. Tvorba $ABTS^{\bullet+}$ přes ferrylmyoglobinový radikál byla nahrazena peroxodisíranem draselným. Zhášení radikálu je uskutečňováno přenosem vodíkových atomů nebo přímou redukcí elektrony z antioxidantů. Na to, jaký mechanismus bude převládat, má vliv pH i struktura antioxidantů. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalentní množství Troloxu [32; 33].

2.3.6.2 Metoda ORAC

Principem metody ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) je sledování inhibice oxidace způsobené peroxylovým radikálem. Peroxylové radikály jsou převládající volné radikály vyvolávající oxidaci lipidů a biologických systémů. Peroxylový radikál, vygenerovaný většinou azosloučeninami (AIBN, ABAP, AMVN, AAPH), interaguje s fluorescenční sondou, přičemž dochází k poklesu fluorescence. Tato změna je detekována fluorimetrem. Tvorba radikálu je vysoce citlivá na teplotu, a proto je klíčové teplotu při měření kontrolovat [32].

Standardním antioxidantem při měření se využívá Trolox a výsledky se vyjadřují v ekvivalentním množství Troloxu. Původně byla metoda ORAC určená pro hydrofilní antioxidanty, ale její úpravy již umožňují i detekci lipofilních antioxidantů [32].

2.3.6.3 Chemiluminescence

Oxidací luminolu peroxidem vodíku dochází ke vzniku sloučeniny zvané 3-aminoftalát v excitované formě, která při chemiluminiscenci vyzařuje světlo [32].

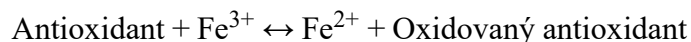
Jako donory vodíkového atomu, mohou antioxidanty potlačit reakci mezi luminolem a peroxidem vodíku, což se projeví na intenzitě vyzařovaného světla [32].

2.3.6.4 Metoda DPPH

DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) je stabilní radikál fialové barvy. Je snadno dostupný a není potřeba ho předem připravovat. Metoda spočívá v neutralizaci DPPH radikálu dodáním elektronu z antioxidantů. Změna je doprovázena změnou barvy, jejíž intenzitu lze měřit spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm. Metoda je často využívána kvůli své jednoduchosti a nenáročnosti na vybavení [32].

2.3.6.5 Metoda FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

Tato metoda je založena na měření intenzity zbarvení modrého železnatého (Fe^{2+}) komplexu, který byl vyprodukován redukcí železitého (Fe^{3+}) komplexu antioxidanty v kyselém prostředí. Reakci popisuje rovnice:



Přírůstek absorpance je zaznamenán při vlnové délce 593 nm. Metoda je jednoduchá, rychlá a nevyžaduje speciální vybavení [32].

2.3.7 Metody stanovení celkových polyfenolů a flavonoidů

2.3.7.1 Stanovení polyfenolů Folin-Ciocalteuvým činidlem

Principem metody je přenos elektronů z polyfenolů na FC činidlo za vzniku modrého komplexu, jehož intenzita zbarvení je měřena spektrofotometricky. Reakce probíhá v zásaditém prostředí. Výsledky měření mohou ovlivňovat oxidační činidla přítomné ve vzorku nebo vzdušný kyslík poté, co je pH roztoku zvýšeno přidáním zásady. Právě kvůli možné reakci se vzdušným kyslíkem se zásada přidává do roztoku až po FC činidlu. Jako standardní látka se využívá kyselina gallová [34].

2.3.7.2 Kolorimetrická metoda s chloridem hlinitým

Metoda je určena pro stanovení celkových flavonoidů. V kyselém prostředí reaguje chlorid hlinitý spolu s flavony a flavonoly na stabilní komplexní molekuly. Reakce probíhají na C-4 ketoskupině a C-3 nebo C-5 hydroxylové skupině [35].

Modifikace této metody zahrnuje přidavek dusitanu sodného v alkalickém prostředí, kdy dochází k nitraci aromatických kruhů nesoucí katecholovou skupinu s nesubstituovanými nebo stericky nebráněnými polohami. Měření se provádí při vlnové délce 510 nm a jako standard je preferován katechin [36].

2.3.8 Metody stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální aktivitu rostlinných extraktů lze stanovit širokou škálou metod. Metody jsou založeny na různých principech. Existují metody difuzní, dluční nebo metody, jejichž podstatou je bioluminiscence. Dále se používá průtoková cytometrie nebo bioautografie v kombinaci s tenkovrstvou chromatografií [37].

2.3.8.1 Difuzní jamková metoda

Metoda je široce využívána ke stanovení antimikrobiální aktivity rostlinných extraktů. Principem je difuze antimikrobiálních látek z extraktů do živného média a inhibice růstu testovaných mikroorganismů. V inokulovaného živném médiu se vytvoří sterilním korkovrtem jamky o průměru 6 až 8 mm. Do nich se přidá 20–100 μl extraktu s potenciálními antimikrobiálními účinkem. Po inkubaci živného média se sleduje inhibice růstu testovaných mikroorganismů [37].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Seznam použitého vybavení a softwaru

- Spektrofotometr UV/VIS Helios ϵ (Massachusetts, USA)
- Laboratorní váhy 440-43 (KERN, Česká republika)
- Třepačka Vortex MS 3 Basic (IKA, Německo)
- Mikropipety (Biohit Proline, Německo)
- Centrifuga MIKRO 120 (Hettich, Německo)
- Mobilní telefon (Xiaomi, Čína)
- PARAFILM® M (Bemis, USA)
- Běžné laboratorní sklo
- Přenosný počítač (Acer, Tchaj-wan)
- Autokláv Vaposteri (BMT, Česká republika)
- ACD/ChemSketch (ACD/Labs, Kanada)
- Operační systém Windows 10
- MS Office

3.2 Použité chemikálie

- Ethanol 96% (PENTA s.r.o.)
- Ethanol pro UV/VIS (VWR Chemicals)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (SIGMA-ALDRICH, s.r.o.)
- Uhličitan sodný (Lach-Ner, s.r.o.)
- Kyseliny gallová (SIGMA-ALDRICH, s.r.o.)
- Dusitan sodný (PENTA s.r.o.)
- Katechin (SIGMA-ALDRICH, s.r.o.)
- Chlorid hlinitý (PENTA s.r.o.)
- Hydroxid sodný (Lach-Ner, s.r.o.)
- Peroxodisíran draselný (Lach-Ner, s.r.o.)
- ABTS (SIGMA-ALDRICH, s.r.o.)
- Nutriční agar (HiMedia Laboratories)
- Sterilní voda
- Destilovaná voda

3.3 Vzorky

Pro přípravu extraktů byl v obchodním řetězci zakoupen zázvorový čaj bio kvality a oddenek čerstvého zázvoru (*Zingiber officinale*).



Obrázek 5: Zázvorový čaj porcovaný [38]

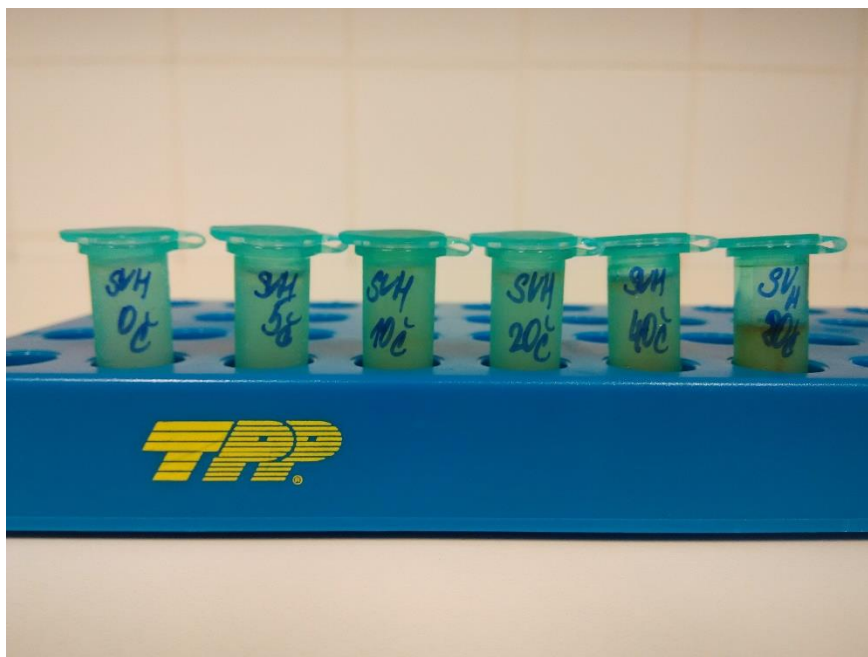


Obrázek 6: Analyzovaný oddenek zázvoru

3.4 Příprava extraktů čaje a oddenku zázvoru

Extrakce sledované skupiny analytů byla provedena do tří rozpouštědel: 96% ethanol, sterilní voda o laboratorní teplotě a vařící sterilní voda.

Části výluhu určené k analýze byly odebírány v časech extrakce 0, 5, 10, 20, 40, 80 minut a objem odebraného výluhu v každém čase činil 4 ml. Vzorky byly skladovány v mrazničce v plastových zkumavkách s víčkem. Před měřením byly vzorky pozvolna rozmrazeny při laboratorní teplotě a následně centrifugovány. Takto upravený materiál byl připraven k samotné analýze.



Obrázek 7: Vzorky extraktů

3.4.1 Příprava extraktů čaje

Do kádinky na 400 ml bylo vloženo 10 g zázvorového čaje a zalito 100 ml rozpouštědla. Ve stanovených časech macerace, uvedených v kapitole 3.4, byly odebírány vzorky k analýze.

3.4.2 Příprava extraktů oddenku zázvoru

Část oddenku zázvoru byla nožem zbavena slupky a opláchnuta destilovanou vodou. Oloupaný zázvor byl nastrouhán na kuchyňském struhadle. Následně bylo naváženo 10 g nastrouhaného zázvoru a vloženo do skleněné kádinky na 400 ml. Do kádinky se vpravilo extrakční rozpouštědlo a v daných intervalech byly odebírány vzorky směsi.

3.5 Stanovení obsahu celkových polyfenolů

Obsah celkových polyfenolů ve vzorcích byl stanoven spektrofotometricky pomocí FC činidla.

3.5.1 Příprava roztoků

Byl připraven roztok FC činidla zředěný v poměru 1 : 9 a uchováván ve skleněné odměrné baňce zakryté alobalem. Byl připraven nasycený roztok uhličitanu sodného, 24,9 g uhličitanu sodného bylo rozpuštěno ve 100 ml destilované vody.

3.5.2 Vlastní stanovení obsahu celkových polyfenolů

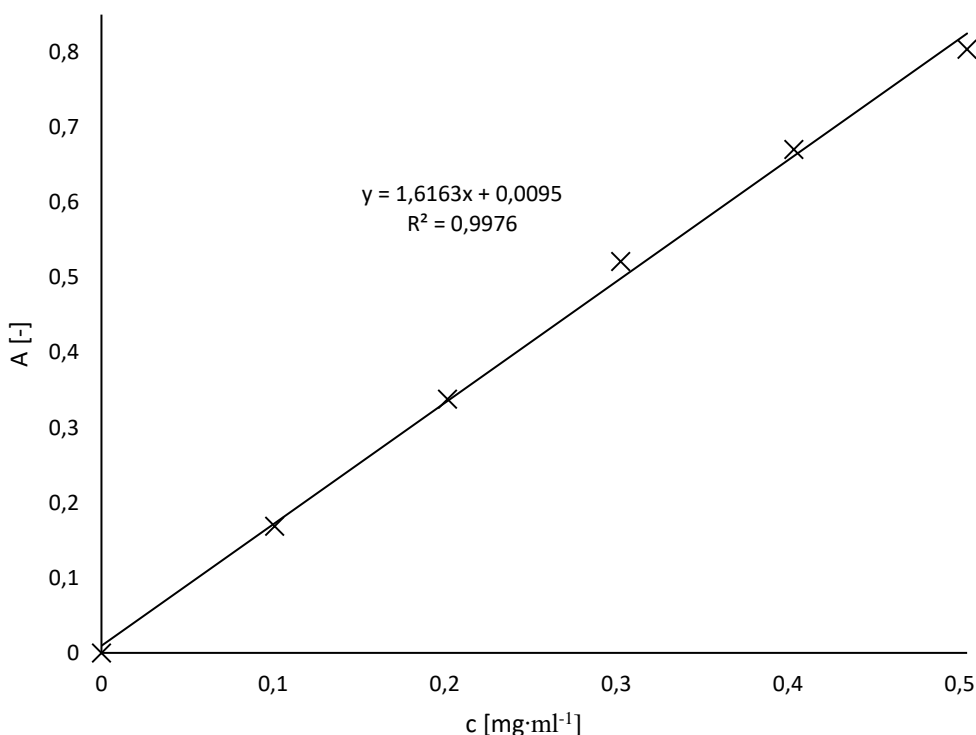
Do skleněné zkumavky byl napipetován 1 ml zředěného FC činidla. Následně byl přidán 1 ml destilované vody a 50 μ l extraktu. Roztok byl důkladně promíchán na třepačce a ponechán stát 5 minut. Následně byl přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného a vše bylo opět důkladně promícháno. Po 15 minutách byla změřena absorbance roztoku na spektrofotometru Helios ϵ v plastových kyvetách oproti slepému vzorku při vlnové délce 750 nm. Slepý vzorek byl připraven obdobným způsobem, kdy se namísto 50 μ l extraktu vzorku použilo 50 μ l

extrakčního rozpouštědla. Měření ethanolových extraktů se provádělo ve skleněných kyvetách. Získané absorbance byly dosazeny do kalibrační rovnice a koncentrace celkových polyfenolů byla vyjádřena jako ekvivalentní množství kyseliny gallové.

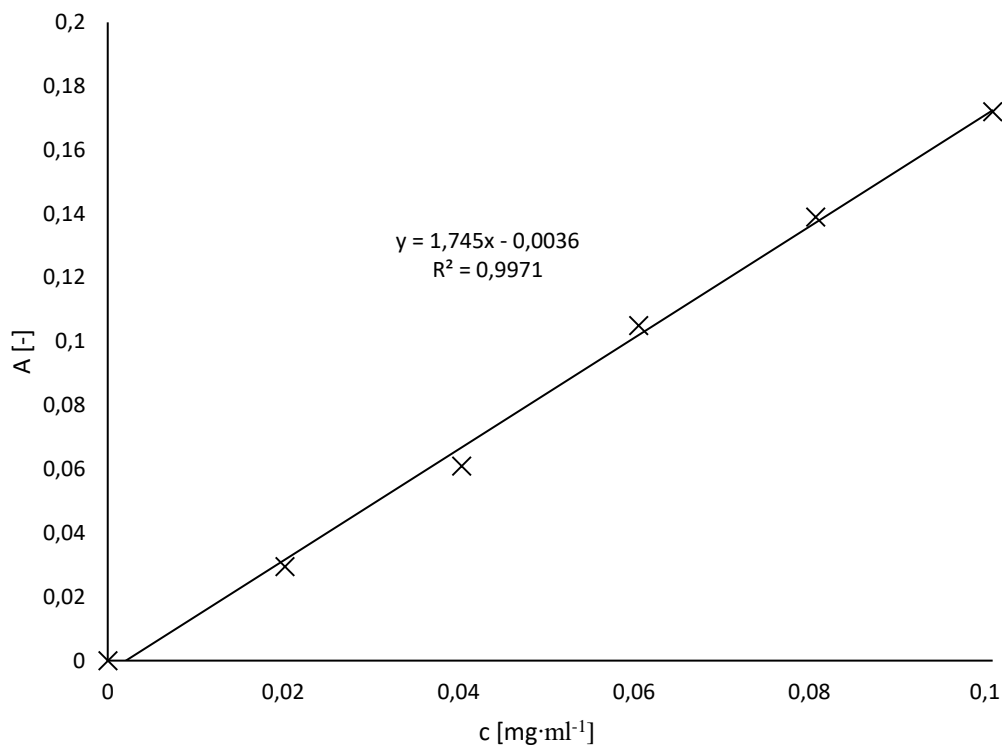
3.5.3 Příprava kalibrační křivky

Pro vytvoření kalibrační závislosti byly sestaveny dvě sady standardů ve dvou různých rozmezích koncentrací: 0,1–0,5 mg·ml⁻¹ a 0,02–0,1 mg·ml⁻¹.

Jako standardní látka pro vytvoření kalibračních roztoků byla použita krystalická kyselina gallová. Byl připraven zásobní roztok kyseliny gallové o koncentraci 5,045 mg·ml⁻¹ a to takovým způsobem, kdy byla navážka standardní látky kvantitativně převedena do skleněné odměrné baňky na 100 ml a doplněna po rysku destilovanou vodou. Z tohoto roztoku bylo pipetováno do zkumavek takové množství, aby vznikly standardy o koncentraci 0,1–0,5 mg·ml⁻¹ a 0,02–0,1 mg·ml⁻¹. Standardní roztoky byly proměřeny stejným způsobem jako extrakty. Závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové v roztoku byla vynesena do grafu.



Obrázek 8: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro vyšší koncentrace



Obrázek 9: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro nižší koncentrace

3.6 Stanovení obsahu celkových flavonoidů

Obsah celkových flavonoidů byl stanoven spektrofotometrickou metodou pomocí AlCl_3 a NaNO_2 .

3.6.1 Příprava roztoků

Do skleněných odměrných baněk byly připraveny tyto roztoky: 5% roztok dusitanu sodného, 1M roztok hydroxidu sodného a 10% roztok chloridu hlinitého.

3.6.2 Vlastní stanovení obsahu celkových flavonoidů

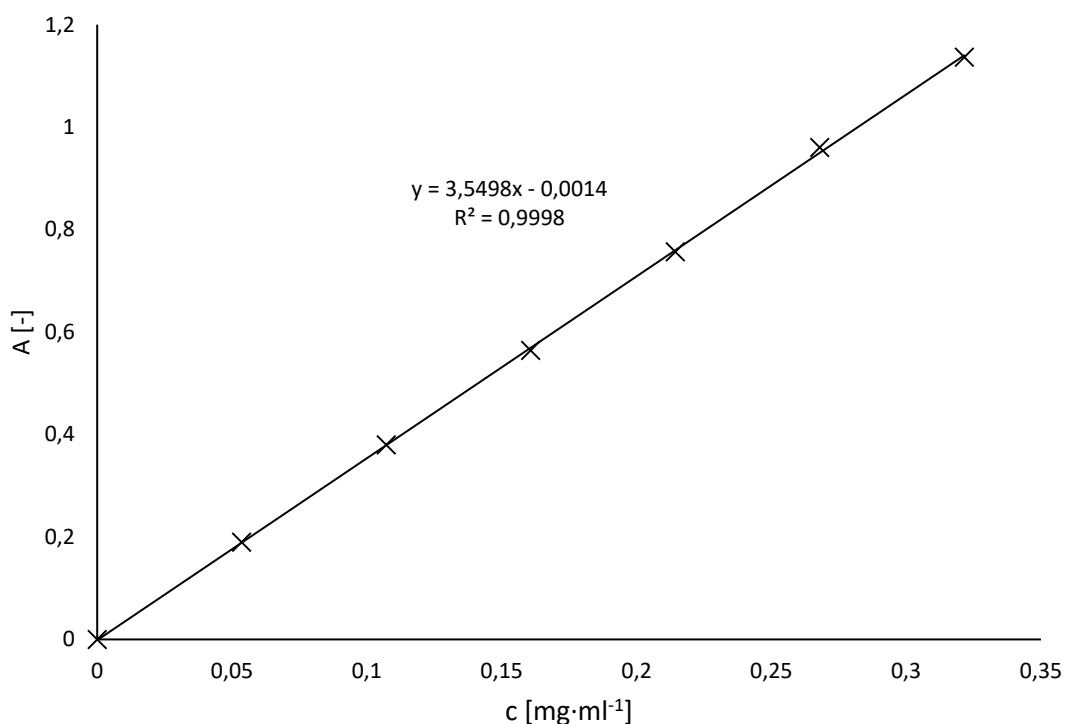
Do skleněných zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml extraktu vzorku, 1 ml destilované vody a 0,2 ml dusitanu sodného. Vše bylo důkladně promícháno na třepačce. Po 5 minutách se ke směsi přidalo 0,2 ml chloridu hlinitého a roztok byl opět důkladně promíchán. Po dalších 5 minutách byl přidán 1 ml hydroxidu sodného a 1,5 ml destilované vody a vše bylo opět promícháno a ponecháno stát. Po 15 minutách byla změřena absorbance roztoků na spektrofotometru Helios ϵ oproti slepému vzorku při vlnové délce 510 nm. Slepý vzorek byl připraven obdobným způsobem, kdy se místo 0,5 ml extraktu vzorku použilo 0,5 ml extrakčního rozpouštědla. Ethanolvý extrakt čaje byl před měřením absorbance centrifugován, aby nedošlo k rušení vzniklou sraženinou.

Získané absorbance byly dosazeny do kalibrační rovnice a obsah celkových flavonoidů byl vyjádřen jako ekvivalentní množství katechinu.

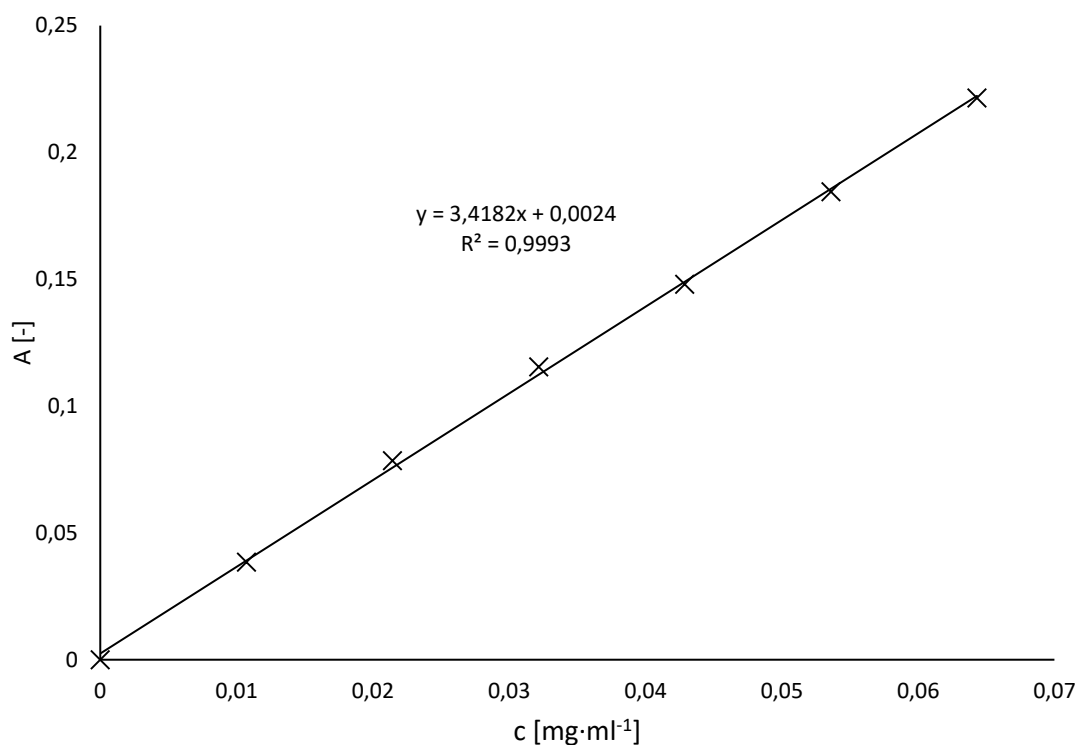
3.6.3 Příprava kalibrační křivky

Pro vytvoření kalibrační závislosti byly sestaveny dvě sady standardů ve dvou různých rozmezích koncentrací: 0,05–0,3 mg·ml⁻¹ a 0,01–0,06 mg·ml⁻¹.

Pro vypracování kalibrační závislosti byl použit katechin. Navážka 0,1072 g katechinu byla kvantitativně převedena do skleněné odměrné baňky na 100 ml a doplněna po značku destilovanou vodou. Z tohoto zásobního roztoku bylo do zkumavek pipetováno takové množství, aby vznikly standardní roztoky v rozmezí koncentrací od 0,05–0,3 mg·ml⁻¹ a 0,01–0,06 mg·ml⁻¹. Standardy byly změřeny stejným způsobem jako extrakty a závislost absorbance na koncentraci byla vynesena do grafu.



Obrázek 10: Kalibrační křivka katechinu pro vyšší koncentrace



Obrázek 11: Kalibrační křivka katechinu pro nižší koncentrace

3.7 Stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS^{•+}

Antioxidační aktivita byla stanovena metodou TEAC.

Roztok ABTS byl rozpuštěn v destilované vodě na koncentraci $7 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Kationradikál ABTS byl získán reakcí s peroxodisíranem draselným o molární koncentraci $2,45 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Roztok byl poté ponechán ve tmě při pokojové teplotě nejméně 12 hodin.

Před měřením byl roztok ABTS^{•+} zředěn na absorbanci $0,70 \pm 0,02$ oproti UV/VIS ethanolu při vlnové délce 734 nm. Poté bylo do zúžené plastové kyvety napipetováno 1 ml ABTS^{•+} a přidáno 10 μl rozpouštědla použitého při extrakci. Poté byla zaznamenána absorbance v čase 0 ($A_t = 0$). Do jiné zúžené kyvety byl napipetován 1 ml ABTS^{•+} a přidáno 10 μl extraktu vzorku. Obsah kyvety byl promíchán a ponechán ve tmě. Po 10 minutách byl změřen pokles absorbance ($A_t = 10$).

Výsledné absorbance byly dosazeny do kalibrační rovnice, která byla získána z kalibrační křivky Troloxu v rozmezích koncentrací $50\text{--}400 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Antioxidační aktivita byla poté vyjádřena jako ekvivalentní množství Troloxu.

$$y = 0,00138913 \cdot c \text{ [39]}$$

3.8 Ověření antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální aktivita extraktů byla testována na bakteriích *Serratia marcescens* CCM 301 a *Bacillus cereus* CCM 2010 pomocí difuzní jamkové metody. Mikroorganismy byly získány z České sbírky mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně.

3.8.1 Charakteristika použitých mikroorganismů

3.8.1.1 *Serratia marcescens*

Gramnegativní bakterie rodu *Serratia*, patřící do čeledi Enterobacteriaceae, jsou vyznačovány tyčinkovým tvarem se zakulacenými konci, průměrem buněk 0,5–0,8 µm a délkou 0,9–2 µm. Jsou přítomny ve vodě, v půdě, vzduchu, rostlinách, zvířatech, hmyzu a v potravinách bohatých na škrob. Optimální podmínky růstu těchto bakterií jsou při pH 9 a teplotě v rozmezí od 20–37 °C. Jako možné patogeny mohou způsobovat onemocnění člověka i zvířat, u kterých je možná následná kontaminace např. mléka nebo masa [40; 41].

První popsanou enterobakterií je *Serratia marcescens*. Její červené zbarvení je způsobeno pigmentem prodigiosinem, ale jeho tvorba je závislá na podmínkách a kmeni bakterie. Je produkován jen za aerobních podmínek při definovaných teplotách. *Serratia marcescens* dokáže přežít a růst i za extrémních podmínek, a to i v přítomnosti antiseptických a dezinfekčních činidel. U této bakterie byla také hlášena odolnost vůči různým antibiotikám [40; 41].



Obrázek 12: *Serratia marcescens* [42]

3.8.1.2 *Bacillus cereus*

Do rodu *Bacillus* (čeleď Bacillaceae) se zařazuje více než 60 druhů, které jsou široce distribuovány v přírodě. Mohou být nalezeny ve vodě, v půdě, v potravinách a lze je izolovat i z eukaryotických organismů. Tyto grampozitivní bakterie tyčinkovitého tvaru mohou růst za aerobních i fakultativně anaerobních podmínek. V potravinářském průmyslu se využívají enzymy produkované nepatogenními kmeny rodu *Bacillus* [40; 41].

Hlavním původcem onemocnění z potravin je druh *Bacillus cereus*. Snadno kontaminuje potraviny rostlinného původu, na které se dostal z půdy, ale často kontaminuje maso, vejce nebo mléčné produkty. Otravy jídlem projevující se průjmem jsou pravděpodobně způsobeny enterotoxiny, které tato bakterie produkuje při logaritmické fázi růstu. Typ této otravy jídlem je téměř identický jako u bakterie *Clostridium perfringens*. Druhým typem intoxikace je tzv. emetický syndrom. Ten je způsobován emetickým toxinem, a první případy byly asociovány s konzumací rýže v čínských restauracích. Projevuje se nevolností, zvracením

doprovázeným průjmem. *Bacillus cereus* tvoří spory, které dokáží přežít i tepelné zpracování potravin [40; 41].



Obrázek 13: *Bacillus cereus* [43]

3.8.2 Příprava kultur mikroorganismů a kultivačního média

Vybrané mikroorganismy byly naočkovány ze šikmého agaru do tekutého média ve skleněných zkumavkách, které byly po inokulaci inkubovány při teplotě 26 °C po dobu 24 hodin v termostatu.

Do Erlenmeyerových baněk bylo naváženo 6 g nutričního agaru a smícháno se 150 ml destilované vody. Živné médium bylo sterilováno v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 20 minut.

3.8.3 Vlastní ověření antimikrobiální aktivity

Do mírně ochlazených sterilovaných živných médií bylo přidáno 1,5 ml promíchané 24hodinové suspenze mikroorganismů a živné médium s mikroorganismy bylo nalito do Petriho misek. Do ztuhlých živných médií byly sterilním skleněným korkovrtem vykrojeny čtyři jamky. Jedna z jamek vždy reprezentovala slepý vzorek, do kterého se přidalo 100 µl rozpouštědla použitého při extrakci, a do zbylých tří bylo pipetováno 100 µl extraktu vzorku. Vyhodnocení antimikrobiální aktivity proběhlo po 72hodinové inkubaci při teplotě 26 °C.

Po inkubaci byla vyhodnocena míra inhibice bakteriálního růstu zázvorových extraktů. Sledována byla přítomnost a případná velikost inhibičních zón.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Náplní práce byla analýza extraktů z oddenku zázvoru a zázvorového čaje. Konkrétně se jednalo o spektrofotometrické stanovení celkových polyfenolů a flavonoidů spolu se stanovením celkové antioxidační aktivity. Dále byla sledována antimikrobiální aktivita extraktů proti bakteriím *Serratia marcescens* a *Bacillus cereus*. V neposlední řadě byl zkoumán vliv extrakčních rozpouštědel a doby extrakce na množství uvolněných látek.

4.1 Obsah celkových polyfenolů

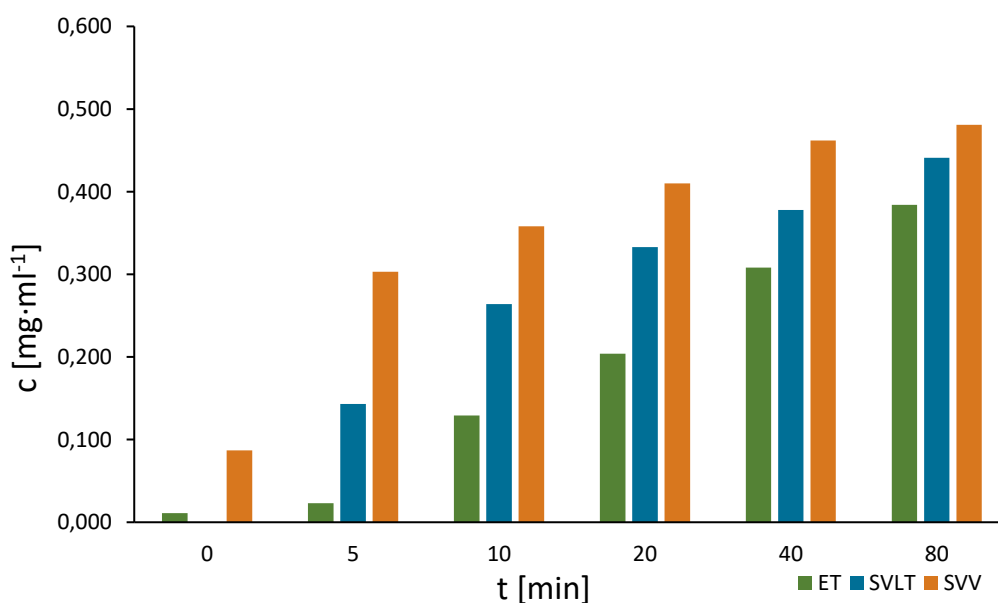
Podle postupu uvedeného v kapitole 3.5 byla stanovena koncentrace celkových polyfenolů ve vzorcích. Vypočítané koncentrace polyfenolů vyjádřeny jako obsah kyseliny gallové jsou uvedeny v Tabulce 4 a Tabulce 5. Koncentrace polyfenolů v čaji byly vypočítány z kalibrační rovnice, která byla získána postupem v kapitole 3.5.3:

$$y = 1,6163 \cdot c + 0,0095$$

Tabulka 4: Koncentrace polyfenolů v čaji

	ET	SVLT	SVV
t [min]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]
0	0,011	0,000	0,087
5	0,023	0,143	0,303
10	0,129	0,264	0,358
20	0,204	0,333	0,410
40	0,308	0,378	0,462
80	0,384	0,441	0,481

t – čas odběru, ET – ethanol, SVLT – sterilní voda o laboratorní teplotě, SVV – sterilní voda vařící



Obrázek 14: Grafické znázornění obsahu polyfenolů v čajových extraktech

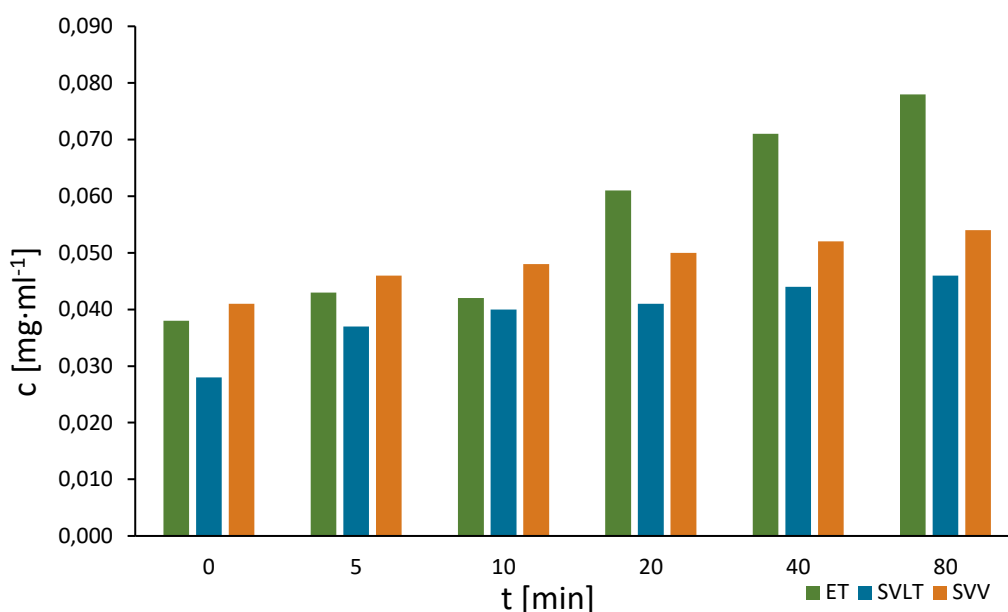
Koncentrace polyfenolů v extraktech oddenku zázvoru byla vypočítána z kalibrační rovnice získané podle postupu z kapitoly 3.5.3:

$$y = 1,745 \cdot c + 0,0036$$

Tabulka 5: Koncentrace polyfenolů v extraktu oddenku zázvoru

	ET	SVLT	SVV
t [min]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]
0	0,038	0,028	0,041
5	0,043	0,037	0,046
10	0,042	0,040	0,048
20	0,061	0,041	0,050
40	0,071	0,044	0,052
80	0,078	0,046	0,054

t – čas odběru, ET – ethanol, SVLT – sterilní voda o laboratorní teplotě, SVV – sterilní voda vařící



Obrázek 15: Grafické znázornění obsahu polyfenolů v extraktech oddenku zázvoru

Z naměřených výsledků můžeme vypožorovat, že se koncentrace polyfenolů zvyšuje s dobou extrakce. Nejvyšší koncentrace polyfenolů byla stanovena na 0,481 mg·ml⁻¹ v extraktu čaje ve vařící vodě v 80 minutách luhování. Naopak u extraktů oddenku zázvoru byly nejvyšší koncentrace zjištěny u ethanolového extraktu s koncentrací 0,078 mg·ml⁻¹ v 80 minutách macerace. Koncentrace polyfenolů u zázvorového extraktu jsou několikanásobně nižší než u čajových výluhů. Důvodem může být fakt, že čaj je vysušená forma oddenku zázvoru, a proto je čajový extrakt koncentrovanější než extrakt z oddenku.

4.2 Obsah celkových flavonoidů

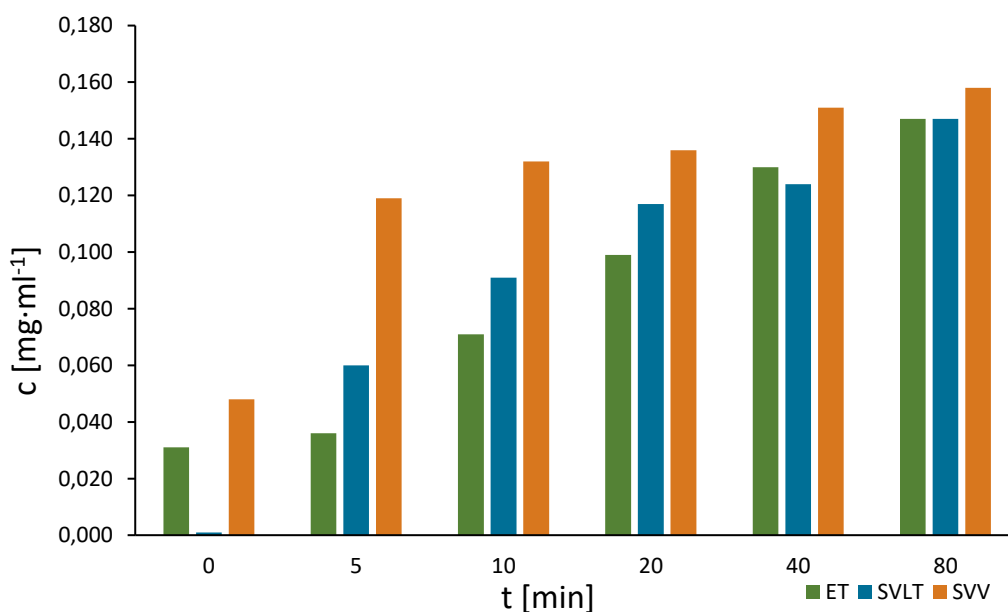
Stanovení celkových flavonoidů bylo provedeno podle postupu uvedeném v kapitole 3.6. Vypočítané koncentrace vyjádřené jako obsah katechinu jsou uvedeny v Tabulce 6 a Tabulce 7. Obsah flavonoidů v čaji byl vypočítán z kalibrační rovnice získané postupem v kapitole 3.6.3:

$$y = 3,5498 \cdot c - 0,0014$$

Tabulka 6: *Koncentrace flavonoidů v čaji*

	ET	SVLT	SVV
t [min]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]
0	0,031	0,001	0,048
5	0,036	0,060	0,119
10	0,071	0,091	0,132
20	0,099	0,117	0,136
40	0,130	0,124	0,151
80	0,147	0,147	0,158

t – čas odběru, ET – ethanol, SVLT – sterilní voda o laboratorní teplotě, SVV – sterilní voda vařící



Obrázek 16: *Grafické znázornění koncentrace flavonoidů v čaji*

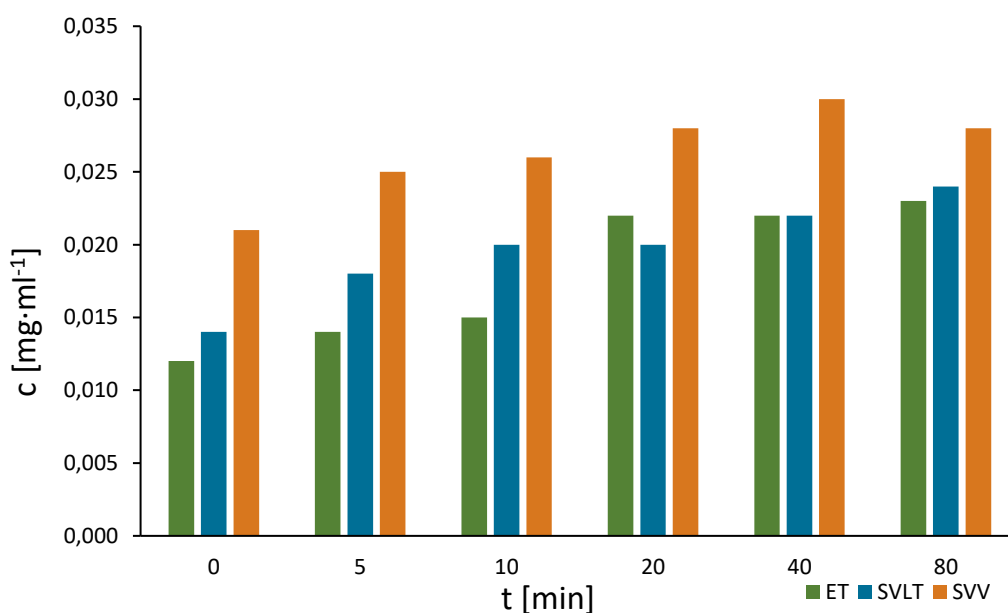
Koncentrace flavonoidů v oddenku zázvoru byla vypočítána z kalibrační rovnice získané postupem v kapitole 3.6.3:

$$y = 3,4182 \cdot c + 0,0024$$

Tabulka 7: *Koncentrace flavonoidů v oddenku zázvoru*

	ET	SVLT	SVV
t [min]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]	c [mg·ml ⁻¹]
0	0,012	0,014	0,021
5	0,014	0,018	0,025
10	0,015	0,020	0,026
20	0,022	0,020	0,028
40	0,022	0,022	0,030
80	0,023	0,024	0,028

t – čas odběru, ET – ethanol, SVLT – sterilní voda o laboratorní teplotě, SVV – sterilní voda vařící



Obrázek 17: *Grafické znázornění obsahu flavonoidů v extraktu oddenku zázvoru*

Stejně jako u polyfenolů, můžeme i zde pozorovat stoupající tendenci koncentrací. Nejkoncentrovanější roztoky byly opět u čajových extraktů, kde se jako nejvhodnějším rozpouštědlem uplatnila opět vařící voda. Nejvyšší koncentrace byla stanovena ve vzorku čaje v čase extrakce 80 minut na hodnotu 0,158 mg·ml⁻¹. Koncentrace flavonoidů u extraktů oddenku zázvoru byla nejvyšší ve vařící vodě s hodnotou 0,030 mg·ml⁻¹ v čase extrakce 40 minut.

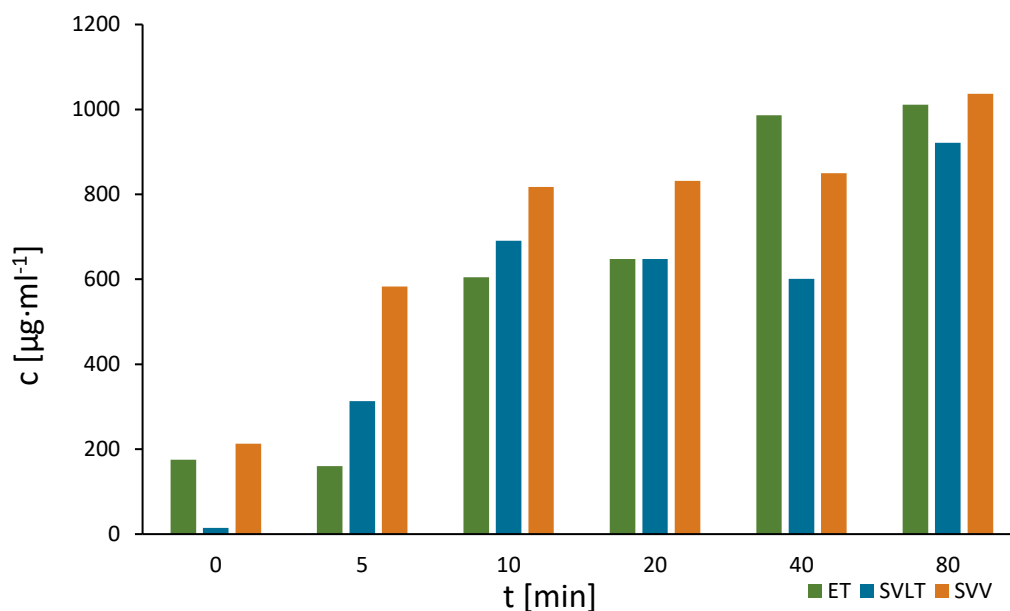
4.3 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita byla stanovena podle postupu v kapitole 3.7. Naměřená data jsou zaznamenána v Tabulce 8 a Tabulce 9.

Tabulka 8: *Antioxidační aktivita čaje*

	ET	SVLT	SVV
t [min]	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
0	175,6	14,4	212,7
5	160,5	312,8	583,1
10	604,7	691,1	817,1
20	647,9	647,9	831,5
40	986,2	601,1	849,5
80	1011,4	921,4	1036,6

t – čas odběru, ET – ethanol, SVLT – sterilní voda o laboratorní teplotě, SVV – sterilní voda vařící

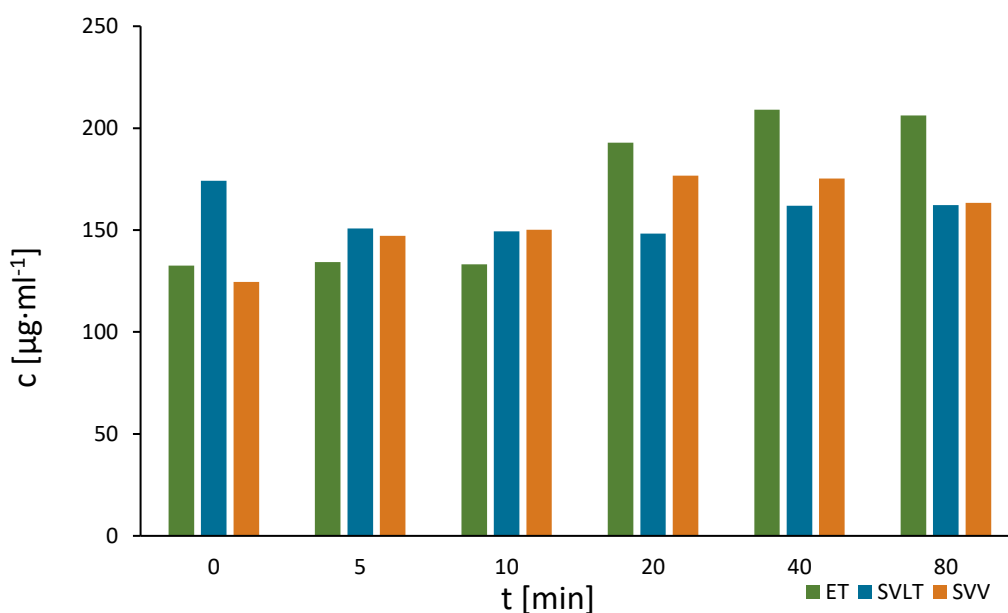


Obrázek 18: *Grafické znázornění antioxidační aktivity čaje*

Tabulka 9: Antioxidační aktivita extraktu oddenku zázvoru

	ET	SVLT	SVV
t [min]	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
0	132,5	174,2	124,5
5	134,3	150,8	147,2
10	133,2	149,4	150,1
20	192,9	148,3	176,7
40	209,1	162,0	175,3
80	206,2	162,3	163,4

t – čas odběru, ET – ethanol, SVLT – sterilní voda o laboratorní teplotě, SVV – sterilní voda vařící

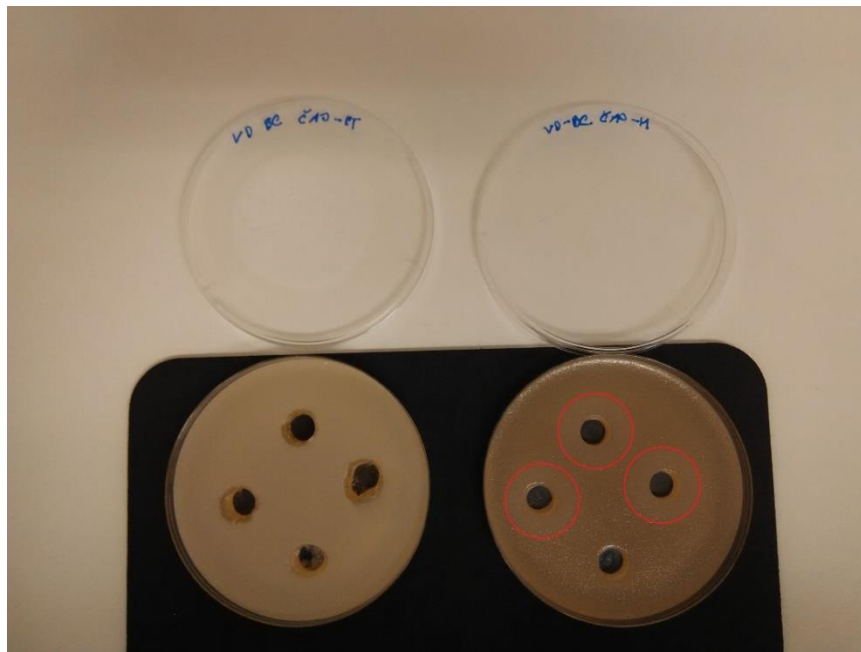


Obrázek 19: Grafické znázornění antioxidační aktivity extraktu oddenku zázvoru

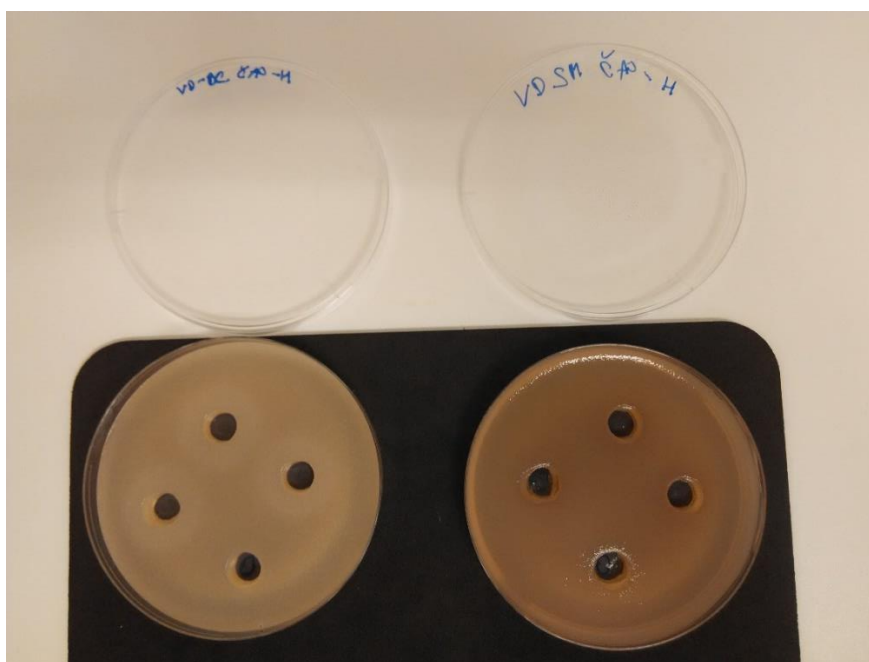
Z naměřených dat vyplývá, že nejintenzivnější antioxidační aktivitou disponují extrakty čaje. Můžeme si povšimnout, že antioxidační aktivita se v čaji výrazně zvyšuje s dobou extrakce. To je pravděpodobně dáno tím, že se jako antioxidační látky uplatňují polyfenoly, jejichž koncentrace se také zvyšovala s dobou extrakce [28]. Podobnou analogii můžeme pozorovat u výluhů oddenku zázvoru, kde se nejvíce polyfenolů uvolnilo do ethanolu, a právě ethanolový extrakt vykazuje nejvyšší antioxidační aktivitu.

4.4 Antimikrobiální aktivita

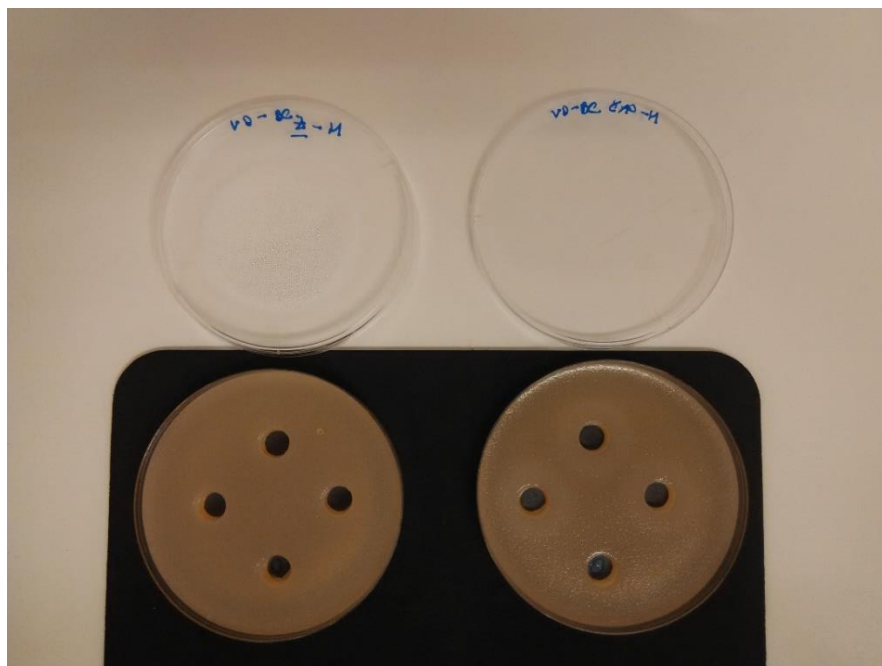
Test antimikrobiálních účinků zázvorových extraktů byl proveden podle postupu uvedeného v kapitole 3.8. Testovány byly pouze extrakty s nejvyšší koncentrací polyfenolů. Výsledky ověření antimikrobiální aktivity jsou zachyceny na obrázcích 20–22.



Obrázek 20: *Bacillus cereus*, ethanolový extrakt čaje vlevo, extrakt čaje ve vařící vodě vpravo, červeně jsou naznačeny inhibiční zóny



Obrázek 21: Extrakty čaje ve vařící vodě s *Bacillus cereus* (vlevo) a *Serratia marcescens* (vpravo)



Obrázek 22: *Bacillus cereus*, extrakt oddenku zázvoru ve vařící vodě (vlevo), čaj ve vařící vodě (vpravo)

Jako antibakteriální látky se uplatňují terpeny a polyfenolické látky [4; 21]. Nepatrné inhibiční zóny byly pozorovány u vzorků s nejvyššími koncentracemi polyfenolů ze všech testovaných. Jedná se o vodné extrakty čaje. Oba dva vzorky obsahovaly bakterii *Bacillus cereus*. Je možné, že antimikrobiální látky nebyly v dostatečné koncentraci, aby inhibovaly růst mikroorganismů. Navíc je *Serratia marcescens* značně odolná bakterie schopna přežít i v extrémních podmínkách [41].

Podle literatury vykazovaly extrakty zázvoru inhibiční účinky proti mikroorganismům *E. coli*, *Y. enterocolitica* i *B. cereus* [44].

5 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo prostudování a analýza přírodních látek v zázvoru. Sledovány byly antioxidační účinky a také antimikrobiální aktivita vůči mikroorganismům *Bacillus cereus* a *Serratia marcescens*. Zázvorové extrakty byly připraveny ze zázvorového čaje a oddenku zázvoru a vyluhování aktivních látek bylo provedeno do ethanolu, vody o laboratorní teplotě a do vody vařící.

Spektrofotometrickými metodami byl stanoven obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v extraktech. Nejvyšší koncentrace polyfenolů byla zaznamenána v extraktu čaje ve vařící vodě v čase extrakce 80 minut. Tato hodnota odpovídá $0,481 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ kyseliny gallové. Nejnižší hodnota byla naměřena u extraktu vody o laboratorní teplotě v čase 0 minut, kdy se v porovnání s ostatními vzorky neuvolnilo ani detekovatelné množství polyfenolů. Do vařící vody, se stejně jako u polyfenolů, uvolnilo nejvíce flavonoidů v čase extrakce 80 minut. Jejich koncentrace, vyjádřená jako množství katechinu, se rovná $0,158 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Nejnižší obsah byl stanoven u vody o laboratorní teplotě v čase 0 minut: $0,001 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Antioxidační aktivita čaje byla nejintenzivnější v čase extrakce 80 minut pro všechny tři rozpouštědla. Velice slabý inhibiční účinek obsažených látek na mikroorganismy byl pozorován u vodných extraktů čaje, a to pouze proti bakterii *Bacillus cereus*.

Z výsledků lze odvodit, že čaj je lepším zdrojem aktivních látek než čerstvý oddenek zázvoru. Významným faktorem může být fakt, že na rozdíl od čerstvého oddenku, je čaj bio kvality.

LITERATURA

- [1] CABALLERO, Benjamin., Lindsay ALLEN a Andrew. PRENTICE. *Encyclopedia of human nutrition*. Volume 3. 2nd ed. Boston: Elsevier/Academic Press, 2005. ISBN 01-215-0110-8.
- [2] NAIDU, A. *Natural food antimicrobial systems*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000. ISBN 08-493-2047-X.
- [3] EDITED BY K.V. PETER., . *Handbook of herbs and spices* [online]. 2nd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2001 [cit. 2018-05-20]. ISBN 978-185-5735-620. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpHHSV0007/handbook-herbs-spices-3/handbook-herbs-spices-3>
- [4] PRABHAKARAN NAIR, K. *The agronomy and economy of turmeric and ginger: the invaluable medicinal spice crops* [online]. Boston: Elsevier, 2013 [cit. 2018-05-20]. Elsevier insights. ISBN 978-0-12-394801-4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394801-4.00029-6>
- [5] ALI, Badreldin, Gerald BLUNDEN, Musbah TANIRA a Abderrahim NEMMAR. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. *Food and Chemical Toxicology* [online]. Elsevier Ltd, 2008, 46(2), 409-420 [cit. 2018-01-31]. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.085. ISSN 0278-6915. Dostupné z: <https://doi-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/10.1016/j.fct.2007.09.085>
- [6] PRASAD, Sahdeo a Amit TYAGI. Ginger and Its Constituents: Role in Prevention and Treatment of Gastrointestinal Cancer. *Gastroenterology Research and Practice* [online]. 2015, 2015, 1-11 [cit. 2018-05-18]. DOI: 10.1155/2015/142979. ISSN 1687-6121. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/grp/2015/142979/>
- [7] REED, M. Herbs and Spices. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* [online]. Elsevier, 2017, , 218-221 [cit. 2018-05-20]. DOI: 10.1016/B978-0-12-394807-6.00008-3. ISBN 9780123948083. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123948076000083>
- [8] JANICK, Jules. *History of Horticulture: the History of Spices* [online]. 2008 [cit. 2018-05-14]. Dostupné z: https://hort.purdue.edu/newcrop/Hort_306/reading/Reading%2026-1.pdf
- [9] ATTOKARAN, Mathew. *Natural food flavors and colorants* [online]. 2nd edition. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2017 [cit. 2018-05-20]. ISBN 978-1-119-11476-5. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpNFFCE00C/natural-food-flavors/natural-food-flavors>
- [10] EMBUSCADO, Milda. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. *Journal of Functional Foods*. 2015, 18, 811-819. DOI: 10.1016/j.jff.2015.03.005. ISSN 17564646. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464615001127>
- [11] SRINIVASAN, Krishnapura. Antimutagenic and cancer preventive potential of culinary spices and their bioactive compounds. *PharmaNutrition*. 2017, 5(3), 89-102. DOI: 10.1016/j.phanu.2017.06.001. ISSN 22134344. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213434417300270>
- [12] EDITED BY K.V. PETER., . *Handbook of Herbs and Spices* [online]. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Pub, 2004 [cit. 2018-05-20]. ISBN 978-1-85573-721-1. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpHHSV0012/handbook-herbs-spices-2/handbook-herbs-spices-2>
- [13] SMALL, Ernest. *Velká kniha koření, bylin a aromatických rostlin*. Vyd. 1. Praha: Volvox Globator, 2006. Verbená. ISBN 80-720-7462-8.

- [14] VALÍČEK, Pavel. *Užitkové rostliny tropů a subtropů*. Vyd. 2., upr. a dopl. Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-0939-6.
- [15] KIRANA, Chandra, Graeme MCINTOSH, Ian RECORD a Graham JONES. Antitumor Activity of Extract of *Zingiber aromaticum* and Its ioactive Sesquiterpenoid Zerumbone. *Nutrition and Cancer* [online]. 2003, 45(2), 218-225 [cit. 2018-01-30]. ISSN 01635581. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=10388748&lang=cs&site=ehost-live>
- [16] KÖHLER, Franz. *Zingiber Officinale*. In: *Köhlers Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen und kurz erläuterndem Texte* [online]. b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://caliban.mpipz.mpg.de/koehler/INGWER.jpg>
- [17] KOH, Hwee, Tung CHUA a Chay TAN. *A guide to medicinal plants: an illustrated, scientific and medicinal approach*. 1st pub. Hackensack, N.J.: World Scientific, 2009. ISBN 978-981-283-709-7.
- [18] JAHODÁŘ, Luděk. *Léčivé rostliny v současné medicíně: (co Mattioli ještě nevěděl)*. Vyd. 1. Praha: Havlíček Brain Team, 2010. ISBN 978-80-87109-22-9.
- [19] LÁNSKÁ, Dagmar. *Koření a jeho užití v ilustracích Zdenky Krejčové*. Vyd. 1. Praha: Aventinum, 2010. Artia (Aventinum). ISBN 978-80-7442-002-3.
- [20] GOVENDER, Alisa, Andrew KINDNESS a Sreekantha JONNALAGADDA. Impact of soil quality on elemental uptake by *Zingiber officinal* (ginger rhizome). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* [online]. Taylor, 2009, 89(5), 367-382 [cit. 2018-01-30]. DOI: 10.1080/03067310802627221. ISSN 0306-7319. Dostupné z: <https://doi-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/10.1080/03067310802627221>
- [21] BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* [online]. Elsevier B.V, 2004, 94(3), 223-253 [cit. 2018-01-31]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022. ISSN 0168-1605. Dostupné z: <https://doi-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- [22] BOŽOVIĆ, Mijat, Alberto NAVARRA, Stefania GARZOLI, Federico PEPI a Rino RAGNO. Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. *Natural Product Research* [online]. Taylor, 2017, 31(20), 2387-2396 [cit. 2018-01-31]. DOI: 10.1080/14786419.2017.1309534. ISSN 1478-6419. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1309534>
- [23] SALVADOR, Amparo. a Alberto. CHISVERT. *Analysis of cosmetic products* [online]. 1st ed. London: Elsevier, 2007 [cit. 2018-05-15]. ISBN 978-0-444-52260-3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpACP00005/analysis-cosmetic-products/analysis-cosmetic-products>
- [24] CABALLERO, Benjamin., Lindsay ALLEN a Andrew. PRENTICE. *Encyclopedia of human nutrition*. Volume 1. 2nd ed. Boston: Elsevier/Academic Press, 2005. ISBN 01-215-0110-8.
- [25] BRGLEZ MOJZER, Eva, Maša KNEZ HRNČIČ, Mojca ŠKERGET, Željko KNEZ a Urban BREN. Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules* [online]. 2016, 21(7) [cit. 2018-05-13]. DOI: 10.3390/molecules21070901. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/7/901>
- [26] CELEP, Gulcin, Reza RASTMANESH a Francesco MAROTTA. Microbial Metabolism of Polyphenols and Health-Chapter 43. *Polyphenols in Human Health and Disease* [online]. San Diego: Academic Press, 2014, s. 577-589 [cit. 2018-05-20]. DOI: 10.1016/B978-0-12-398456-2.00043-8. ISBN 978-0-12-398456-2. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123984562000438>

- [27] CHAUDHARI, Swapnil a Sachin BADOLE. Chapter 56 - Polyphenols and Tuberculosis. *Polyphenols in human health and disease* [online]. Boston: Elsevier/Academic Press, 2014, s. 723-730 [cit. 2018-05-13]. DOI: 10.1016/B978-0-12-398456-2.00056-6. ISBN 978-0-12-398456-2.
Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123984562000566>
- [28] BRAVO, Laura. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* [online]. 1998, 56(11), 317-333 [cit. 2018-05-11]. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x. ISSN 00296643.
Dostupné z: <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article-lookup/doi/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- [29] CELEP, Gulcin, Reza RASTMANESH a Francesco MAROTTA. Chapter 43 - Microbial Metabolism of Polyphenols and Health. *Polyphenols in Human Health and Disease* [online]. San Diego: Academic Press, 2014, s. 577-589 [cit. 2018-05-20]. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00043-8>. ISBN 978-0-12-398456-2.
Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123984562000438>
- [30] GHASEMZADEH, Ali, Hawa JAAFAR a Asmah RAHMAT. Identification and Concentration of Some Flavonoid Components in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Varieties by a High Performance Liquid Chromatography Method. *Molecules* [online]. 2010, 15(9), 6231-6243 [cit. 2018-05-16]. DOI: 10.3390/molecules15096231. ISSN 1420-3049.
Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/15/9/6231>
- [31] AZMIR, J., I.S.M. ZAIDUL, M.M. RAHMAN et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* [online]. 2013, 117(4), 426-436 [cit. 2018-05-20]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>. ISSN 0260-8774. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413000277>
- [32] ZHONG, Y. a F. SHAHIDI. 12 - Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. Woodhead Publishing, 2015, s. 287-333. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00012-9>. ISBN 978-1-78242-089-7. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781782420897000129>
- [33] *Zen-Bio.com: ABTS Antioxidant Assay Kit* [online]. b.r. [cit. 2018-05-13]. Dostupné z: <http://www.zen-bio.com/pdf/ZBM0034-ABTS-AOX-1.pdf>
- [34] AINSWORTH, Elizabeth a Kelly GILLESPIE. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* [online]. 2007, 2(4), 875-877 [cit. 2018-05-14]. DOI: 10.1038/nprot.2007.102. ISSN 1754-2189.
Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nprot.2007.102>
- [35] CHANG, C.-C., M.-H. YANG, H.-M. WEN a J.-C. CHERN. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002, 10(3), 178-182.
Dostupné také z: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0036758020&partnerID=40&md5=2b2cab40521c964bd2b90460c6596e0a>
- [36] PęKAL, Anna a Krystyna PYRZYŃSKA. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods* [online]. 2014, 7(9), 1776-1782 [cit. 2018-05-14]. DOI: 10.1007/s12161-014-9814-x. ISSN 1936-9751.
Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12161-014-9814-x>

- [37] BALOUIRI, Mounyr, Moulay SADIKI a Saad IBNSOUDA. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016, 6(2), 71-79. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>. ISSN 2095-1779. Dostupné také z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177915300150>
- [38] Zázvor bio 20 g porcovaný jednokomorový. In: *Sonnentor* [online]. b.r. [cit. 2018-05-10]. Dostupné z: <https://www.sonnentor.com/cs-cz/>
- [39] MÁROVÁ, Ivana a Stanislav OBRUČA. *Vybrané instrumentální úlohy z aplikované biochemie*. Vyd. 1. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. ISBN 978-802-1447-882.
- [40] ROBINSON, R., Carl BATT a P. PATEL. *Encyclopedia of food microbiology* [online]. San Diego: Academic Press, 2000 [cit. 2018-05-12]. ISBN 978-0-12-227070-3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFMV0004/encyclopedia-food-microbiology/encyclopedia-food-microbiology>
- [41] MOTARJEMI, Yasmine, Gerald MOY a E. TODD. *Encyclopedia of food safety* [online]. First edition. Boston: Elsevier, Academic Press, 2014 [cit. 2018-05-12]. ISBN 978-0-12-378612-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFS00001/encyclopedia-food-safety/encyclopedia-food-safety>
- [42] NĚMEC, Miroslav, Ludmila KOTOUČKOVÁ a Zdena PÁČOVÁ. *Serratia marcescens*. In: *Miniatlas mikroorganismů* [online]. b.r. [cit. 2018-05-12]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/bakterie/kolonie/smarc-mpa.jpg>
- [43] NĚMEC, Miroslav, Ludmila KOTOUČKOVÁ a Zdena PÁČOVÁ. *Bacillus cereus* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-12]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/bakterie/kolonie/bcereush.jpg>
- [44] S., Murthy, Gautam RANJU a J NAIK. Ginger Oleoresin Chemical Composition, Bioactivity and Application as Bio-Preservatives. *Journal of Food Processing and Preservation*. Wiley/Blackwell (10.1111), 2015, 39(6), 1905-1912. DOI: 10.1111/jfpp.12428. ISSN 0145-8892. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1111/jfpp.12428>

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
AIBN	α,α -azobisisobutyronitrile
ABAP	2,2'-azobis(2-amidinopropane)
AMVN	2,2'-azobis(2,4-dimethylvaleronitrile)
AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropane)
ROS	reactive oxygen species
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
FRAP	Feric reducing antioxidant power
FC	Folin-Ciocalteuovo činidlo
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity